

# **Identifikasi Molekuler Bakteri Pada Saliva Anjing (*Canis lupus familiaris*) Ras Siberian Husky**



## **Skripsi**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains  
Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

**Nurul Afriani Arif**  
NIM. 60300114005

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UIN ALpAUDDIN MAKASSAR**

2018

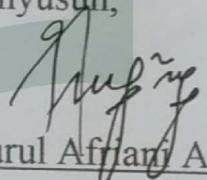
## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurul Afriani Arif  
NIM : 60300114005  
Tempat/Tgl. Lahir : Timurung/ 23 Oktober 1996  
Jur/Prodi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Alamat : Samata, Gowa  
Judul : Identifikasi Molekuler Bakteri Pada Saliva Anjing (*Canis lupus familliaris*) Ras Siberian Husky

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika di kemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, 30 Agustus 2018.  
Penyusun,

  
Nurul Afriani Arif  
NIM: 60300114005

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
**ALAUDDIN**  
M A K A S S A R

## PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul, "Identifikasi Molekuler Bakteri Pada Saliva Anjing (*Canis lupus familiaris*) Ras Siberian Husky", yang disusun oleh Nurul Afriani Arif, NIM: 60300114005, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang *munaqasyah* yang diselenggarakan pada hari Senin, tanggal 4 Juni 2018 M, bertepatan dengan 16 Ramadhan 1438 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Ilmu Sains dan Teknologi, Jurusan Biologi (dengan beberapa perbaikan).

Makassar, 4 Juni 2018 M.  
16 Ramadhan 1439 H.

### DEWAN PENGUJI:

Ketua : Dr. H. Muh. Tahir Maloko, M.Hi (.....)

Sekretaris : Hasyimuddin, S.Si., M.Si. (.....)

Munaqisy I : Eka Sukmawaty, S.Si., M.Si. (.....)

Munaqisy II : Prof. Arifuddin Ahmad, M.Ag. (.....)

Pembimbing I : Dr. Mashuri Masri, S.Si., M.Kes. (.....)

Pembimbing II: Dr. Fatmawati Nur, S.Si., M.Si (.....)



Diketahui oleh:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Alauddin Makassar,

Prof. Arifuddin Ahmad, M.Ag.  
NIP. 19691205 199303 1 001

## KATA PENGANTAR

### بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Setelah melalui proses pengerjaan yang cukup panjang, akhirnya skripsi ini dapat juga terselesaikan. Untuk itu, penulis memanjatkan segala pujian dan rasa syukur tertinggi atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya. Dialah Allah, Tuhan semesta alam yang mengajarkan kepada manusia semua ilmu di muka bumi ini.

Dia pulalah yang memberikan potensi kesuksesan kepada manusia. Memberikan akal, penglihatan, pendengaran dan hati kepada manusia untuk dapat meraih sesuatu yang diinginkan. Salawat dan salam semoga dilimpahkan kepada para Nabi, para Rasul dan pengikut mereka hingga akhir zaman. Salawat dan salam paling sempurna semoga senantiasa dilimpahkan kepada baginda Rasulullah Muhammad saw. yang tak kenal lelah menyampaikan risalah, amanat dan nasehat kepada seluruh manusia. Semoga Allah memberinya kebaikan, wasilah, keutamaan, kemuliaan dan kedudukan yang terpuji.

Skripsi ini dapat terselesaikan dengan adanya bantuan yang penulis peroleh dari berbagai pihak. Tidak mungkin menyebutkan mereka satu persatu di sini. Meskipun begitu, pihak yang secara langsung terkait dan berjasa dalam pengerjaan tulisan ini harus disebutkan. Namun, penulis memohon pengertian mereka yang seharusnya disebutkan namun tak disebutkan karena keterbatasan ruang.

Pertama-tama penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang dalam dan tulus kepada kedua orang tua penulis yakni ayahanda Muhammad Arif dan ibunda



Erni yang senantiasa merawat dan mendidik penulis dari kecil hingga sekarang. Penulis berharap semoga Allah senantiasa memberikan balasan dan tempat terbaik kelak disurgaya. Penulis menyadari bahwa ucapan terima kasih penulis tidak sebanding dengan pengorbanan yang dilakukan oleh keduanya. Untuk kedua orangtua tercinta, pengertian, motivasi dan doa yang selalu engkau panjatkan senantiasa penulis ingat, kagumi dan hargai.

Selanjutnya, penulis sudah sepatutnya menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Musafir Pababari, M.Si., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
2. Bapak Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar. beserta Wakil Dekan I, II dan III, dan seluruh staf administrasi yang telah memberikan berbagai fasilitas kepada kami selama masa pendidikan.
3. Bapak Dr. Mashuri masri, S.Si., M.Kes selaku ketua jurusan Biologi serta penasehat akademik dan pembimbing I dalam penulisan skripsi yang telah meluangkan waktunya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan, serta sekretaris Jurusan Biologi atas segala ilmu, petunjuk serta arahannya selama berkuliah di UIN Alauddin.
4. Ibu Dr. Fatmawati Nur, S.Si., M.Si selaku pembimbing II dalam penulisan skripsi yang senantiasa menyisihkan sedikit waktu-waktunya yang berharga

untuk membimbing penulis. Saran-saran serta kritik-kritik mereka sangat bermanfaat dalam merampungkan skripsi ini.

5. Ibu Eka Sukmawaty, S.Si., M.Si selaku pembahas I, dan Bapak Prof. Dr. H. Arifuddin Ahmad, M.Ag bselaku pembahas II.
6. Bapak dan Ibu dosen dalam jajaran Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar yang selama ini telah mendidik penulis dengan baik, sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikannya pada tingkat perguruan tinggi.
7. Kepala Laboratorium dan para Laboran Biologi Fakultas Sains dan Teknologi yang senantiasa memberikan saya wadah dalam melakukan praktikum serta banyak pengenalan dan pengalaman dalam laboratorium.
8. Bapak dan ibu pegawai Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin (RSP UNHAS) yang senantiasa membimbing selama penelitian berlangsung.
9. Kepada Kak Ati Staf di Jurusan Biologi yang sangat membantu dalam penyelesaian tugas akhir penulis. Senantiasa meluangkan waktunya, baik dalam hal peminjaman buku, mengurus persuratan dan sebagainya.
10. Kepada saudara dan saudari dari ibu dan ayah saya Tante, Paman, sepupu Maskurina dan nenek, yang senantiasa memberikan semangat dan do'a kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir.
11. Kepada kakanda Halik Hamid, S.Pt dan Leoni (pemilik Anjing) yang senantiasa rela berkorban memberikan dukungan, motivasi, semangat, doa dan segala

bantuan baik dari segi tenaga, pikiran terlebih dalam pengambilan sampel saliva anjing dan lainnya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir.

12. Saudara seperjuanganku Fitria Ramadana, Nirwana, Almik Agri Lestari dan Zulfiana Machmud yang senantiasa berjuang sama-sama, saling memberikan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir.
13. kepada teman se-Angkatan (LACTEAL) yang senantiasa memberikan semangat dan do'a kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir.
14. Adik-adik mahasiswa jurusan Biologi 2015, 2016, dan 2017 serta para senior Biologi.
15. Teman-teman KKN-57 di Kabupaten Gowa, Kecamatan Bontonompo, khususnya di Desa Manjapai yang selalu memberikan dukungan, motivasi, semangat, dan doanya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhirnya.
16. Kepada teman teman sekaligus keluarga saya IKA Al-Ihklas terkhusus angkatan ke-10 atas semangat dan dukungan beserta doa dari mereka sehingga penulis bisa menyelesaikan proses study hingga tugas akhirnya.
17. Serta semua pihak yang telah membantu dalam penulisan tugas akhir ini yang tidak dapat dituliskan satu persatu.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada kepala perpustakaan UIN Alauddin Makassar beserta staf-stafnya sehubungan dengan pengumpulan bahan-bahan untuk membuat skripsi ini.

Pada kenyataannya, walaupun menerima banyak bantuan dari berbagai pihak, pada dasarnya yang bertanggung jawab terhadap tulisan ini adalah penulis

sendiri. Terakhir penulis harus sampaikan penghargaan kepada mereka yang membaca dan berkenan memberikan saran, kritikan atau bahkan koreksi terhadap kekurangan dan kesalahan yang pasti masih terdapat dalam skripsi ini. Semoga dengan saran dan kritik tersebut, skripsi ini dapat diterima dikalangan pembaca yang lebih luas lagi di masa yang akan datang. Semoga karya yang sangat sederhana ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Samata, April 2018

**Nurul Afriani Arif**  
**NIM: 60300114005**





## DAFTAR ISI

<b>SAMPUL.....</b>	<b>...i</b>
<b>PERNYATAAN KEALIAAN SKRIPSI .....</b>	<b>ii</b>
<b>PENGESAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ILUSTRASI .....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xiii</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1-8</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Ruang Lingkup Penelitian.....	5
D. Kajian Pustaka/Penelitian Terdahulu .....	6
E. Tujuan Penelitian .....	8
F. Kegunaan Penelitian.....	8
<b>BAB II KAJIAN TEORITIS.....</b>	<b>9-35</b>
A. Ayat yang relevan (Muscadomestica).....	9
B. Hadist yang relevan.....	13
C. Tinjauan Umum Anjing .....	14
D. Tinjauan Umum air liur anjing.....	22
E. Tinjauan umum Bakteri.....	23

F. Tinjauan Tentang Identifikasi Molekuler Melalui Amplifikasi Gen	
16S rRNA .....	26
G. Tinjauan Tentang PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	30
H. Kerangka Pikir .....	35
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>36-44</b>
A. Jenis dan Pendekatan Penelitian.....	36
B. Waktu dan lokasi penelitian.....	36
C. Variabel Penelitian.....	36
D. Definisi Operasional Variabel.....	36
E. Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan).....	37
F. Prosedur Kerja.....	38
G. Identifikasi Molekuler.....	38
H. Analisis dan Sekuensing .....	43
I. Skema kerja.....	44
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>45-51</b>
A. Hasil Penelitian .....	45
B. Pembahasan.....	47
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>56</b>
5.1 Kesimpulan .....	56
5.2 Saran.....	56
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>57-61</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Komposisi Primer Mix .....	9
Tabel 4.1. Hasil Idnetifikasi Molekuler Anjing ( <i>Canis lupus familiarid</i> ) Ras Siberian Husky menggunakan BLAST dari NCBI.....	45



## DAFTAR ILUSTRASI

Gambar 2.3.1. Anjing ( <i>Canis lupus familiaris</i> ) Ras Siberian Husky .....	16
Gambar 2.3.2. Anjing ( <i>Canis lupus familiaris</i> ) Ras Labrador Retriever.....	17
Gambar 2.3.3. Anjing ( <i>Canis lupus familiaris</i> ) Ras Golden Retriever.....	18
Gambar 2.3.4. Anjing ( <i>Canis lupus familiaris</i> ) Ras Doberman.....	19
Gambar 2.3.5. Anjing ( <i>Canis lupus familiaris</i> ) Ras Doberman.....	20
Gambar 2.3.6. Anjing ( <i>Canis lupus familiaris</i> ) Ras Rottwiller .....	21
Gambar 2.7. Struktur Ribosom pada Prokariot .....	26
Gambar 2.8. ilustrasi amplifikasi pada PCR.....	34



## ABSTRAK

**Nama** : Nurul Afriani Arif  
**NIM** : 60300114005  
**Judul Skripsi** : Identifikasi Molekuler Bakteri Saliva Anjing (*Canis lupus familiaris*) Pada Ras Siberian Husky

---

Saliva Anjing merupakan salah satu suspek najis menurut islam. Saliva anjing mengandung bakteri yang masih kurang teridentifikasi jenis bakterinya. Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif dengan cara identifikasi molekuler menggunakan 16S rRNA dengan bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri yang ada pada air liur Siberian husky menggunakan dua metode pengambilan sampel yaitu metode swab dan metode saliva murni. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri yang teridentifikasi pada Siberian husky dengan metode swab yaitu *Federiksenia canocola*, *Ursidibacterium maritimus*, *Pasteurellaceae bacterium*. Merupakan salah satu bakteri penginfeksi primer pada pernafasan, bakteri patogen ini terdapat pada hewan peliharaan atau satwa liar. *Ursidibacter maritimus*, *Biberstinea trehalosis*. Sedangkan pada metode saliva murni terdapat *Undibacterium parvum* yang memiliki kedekatan filogenetik dengan *Undibacterium pigrum* biasanya terdapat pada babi hutan yang membedakan antar keduanya yaitu jenis strain. *Herbasprillum huttiense*, *Gallionella ferruginea*, *Oxalobacterium strein* Hp9r, *Undibacterium* sp. Beberapa dari bakteri ini merupakan bakteri patogen bagi manusia dan hewan ternak.

Kata kunci : Siberian Husky, Saliva anjing, identifikasi molekuler, *Undibacterium parvum*, dan *Pasteurella bacteria*, *Herbasprillum huttiense*, *Gallionella frugenea*, *oxalobacterium*, *Undibacterium*, *Frediksenia*, *canicola*, *Ursidibacter maritimus*, *Biberstenia tehalosis*.



## ABSTRACT

**Name : Nurul Afriani Arif**

**Student ID Number : 60300114005**

**Title : Molecular identification of Dog Saliva Bacteria (*Canis lupus familiaris*) On Ras Siberian Husky**

---

Dog salivary is one of the odious suspects according to Islam. Saliva dogs contain bacteria that are still unidentified bacteria. This research is an explorative research by way of molecular identification using 16S rRNA with aim to know the type of bacteria that exist in saliva Siberian husky use two sampling method swab method and pure saliva method. The results showed that the bacteria identified in Siberian husky with the swab method were *Ferederiksenia canocola*, *Ursidibacterium maritimus*, *Pasteurellaceae bacterium*. The primary infectious bacteria in the respiration, found in pets or wildlife., *Biberstinea trehalosis*. While in pure saliva method there is *Undibacterium parvum* which has phylogenetic proximity with *Undibacterium pigrum* usually found in wild boar which distinguish between the two types of strain. *Herbasprillum huttiense*, *Galionella ferrugenea*, *Oxalobacterium*, *Undibacterium* sp. Some of these bacteria are pathogenic bacteria to livestock and humans.

Key word: Siberian Husky, Dog salivary, molecular identification, *Undibacterium parvum*, and *Pasteurella bacteria*, *Herbasprillum huttiense*, *Gallionella frugenea*, *oxalobacterium*, *Undibacterium*, *Frediksenia*, *canicola*, *Ursidibacter maritimus*, *Bibersteniatehalo*

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Allah swt. menciptakan segala sesuatu berdasarkan bentuk dan ukurannya. Dialah sang pencipta yang maha mengetahui apa yang terbaik untuk ciptaannya, dimuka bumi ini begitu banyak ciptaanNya baik yang berukuran besar (*Macro*) maupun yang berukuran kecil (*Micro*) bahkan yang renikpun sekalian. Sebagaimana yang dijelaskan dalam al-Qur'an dalam QS. an-Nahl/ 16 : 14 dalam firmanNya:

وَمَا ذَرَأَا لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَنًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ

Terjemahnya:

Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran (Kementerian Agama RI, 2012).

Dalam tafsir kementerian agama RI surah an-Nahl/16: 13 menjelaskan Allah menjelaskan bahwa Dia juga mengendalikan segala macam benda yang diciptakanNya, baik benda-benda itu hanya terdapat di permukaan bumi seperti aneka ragam binatang ternak dan tumbuhan, maupun benda-benda yang terdapat dalam perut bumi, seperti mineral dan barang tambang semua itu diciptakan Allah dalam beraneka ragam jenis, bentuk, dan manfaatnya. Di akhir ayat dijelaskan bahwa sesungguhnya pada nikmat-nikmat yang telah diciptakan Allah yang beranekaragam bentuk terdapat tanda-tanda kekuasaan bagi orang-orang yang mengambil pelajaran.

Bagi mereka yang memahami betapa besarnya nikmat Allah yang telah diberikan kepada mereka dan mensyukuri dengan memanfaatkannya sebagaimana mestinya dan sesuai dengan memanfaatkannya sebagaimana mestinya dan sesuai dengan keperluan mereka menurut keridaan Allah (Hanafi dkk, 2003).

Berdasarkan tapfsir diatas yang perlu digaris bawah yaitu “sesungguhnya pada nikmat-nikmat yang telah diciptakan Allah yang beranekaragam bentuk terdapat tanda-tanda kekuasaan bagi orang-orang yang mengambil pelajaran” Dia menciptakan berbagai macam jenis makhluk hidup khususnya makhluk renik yang tidak terlihat secara kasat mata namun dapat dirasakan keberadaanya disekitar kita seperti halnya dengan bakteri, virus, protozoa dan nemathoda yang berukuran renik (mikro).

Mikroorganisme yang ada di muka bumi ini begitu beraneka ragam macam tingkatan, bentuk dan habitat seperti bakteri, virus, protozoa dan nematoda. Begitupun dengan mikroorganisme khususnya bakteri yang ada pada air liur anjing dan pada dasarnya Agama islam menggolongkan anjing sebagai najis besar (*mughalladzah*), maka dari itu umumnya masyarakat Indonesia khususnya yang beragama islam banyak yang menjauhi anjing.

Adapun salah satu sumber ajaran bagi umat islam yang membahas tentang suatu cara mensucikan

حَدَّثَنَا زُهَيْرُ بْنُ حَرْبٍ حَدَّثَنَا إِسْمَاعِيلُ بْنُ إِبْرَاهِيمَ عَنْ هِشَامِ بْنِ حَسَّانَ عَنْ مُحَمَّدِ بْنِ سِيرِينَ عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ

عَلَيْهِ وَسَلَّمَ طَهُورُ إِنَاءٍ أَحَدِكُمْ إِذَا وَلَغَ فِيهِ الْكَلْبُ أَنْ يَغْسِلَهُ سَبْعَ  
مَرَّاتٍ أَوْ لَاهُنَّ بِالتُّرَابِ

Artinya:

Dan telah menceritakan kepada kami Zuhair bin Harb telah menceritakan kepada kami Ismail bin Ibrahim dari Hisyam bin Hassan dari Muhammad bin Sirin dari Abu Hurairah dia berkata, "Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam bersabda: "Sucinya bejana kalian apabila ia dijilat oleh anjing adalah dengan mencucinya tujuh kali, yang pertama dengan tanah." (HR. Muslim No. 420).

Adapun makna dari hadist diatas yaitu diketahui bahwa benda yang pernah dijilat anjing, maka harus dicuci karena tergolong najis dan cara menyucikannya adalah tujuh kali dan salah satu dari yang tujuh tersebut adalah dengan menggunakan tanah. Dimana diketahui pada pakar medis modern telah menemukan materi yang terdapat pada tanah yang dapat mensterilkan beberapa bakteri pathogen yiaut tetracycline dan tetarolite.

Dalam hadist dijelaskan bahwa untuk menghilangkan najis adalah dengan mencuci air atau dipanaskan di atas api. Menghilangkan najis berarti menghilangkan atau membersihkan hingga hilang warna, bau, dan rasanya. Hal demikian, islam merupakan perintis pertama yang memberikan suatu peringatan bahwa perubahan warna, bau, dan rasa menunjukkan adanya Zat yang hidup dan aktif. Adapun benda-benda najis yang diisyaratkan oleh Al-qur'an dan hadist dan di dalamnya mengandung antara lain: nanah, kotoran hajat, darah, tumpahan (muntah), air liur anjing, babi, dan segala sesuatu yang membusuk seperti sisa-sisa hewan yang mati atau potongan hewan yang hidup (Erwan, 2008).

Anjing banyak mengeluarkan air liur Karena anjing tidak memiliki kelenjar keringat, oleh karna itu untuk mengatur suhu tubuhnya anjing menurunkan suhu tubuhnya dengan memproduksi air liur lebih banyak. Kelenjar saliva terbagi atas dua yaitu kelenjar saliva mayor (*paratiroid, mandibularis, sublingual* dan *Zygomaticus*) dan kelenjar saliva minor yang terdapat dibagian ventral *buccalis* (peter, 1997).

Sekresi saliva distimulasi oleh N. *Facialis* (superior) dan N. *Glossopharyngeus* (inferior), keduanya dipengaruhi oleh sistem saraf simpatis (komposisi air liur) dan parasimpatis (volume air liur). Sedangkan rangsangan terhadap sekresi saliva dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain: panca indera (perasa, penciuman dan penglihatan), mekanik (mastikasi), iritasi atau infeksi, hormonal (bradikinin), dan obat (atropin) (Sjuhada 2007).

Indonesia merupakan salah satu negara yang masyarakatnya tergolong penganut agama islam terbesar di Dunia dan juga banyak menjadikan anjing sebagai teman pengawal baik itu sebagai penjaga keamanan, hewan pemburu maupun sebagai hewan peliharaan. Namun terkait dengan hadist riwayat muslim yang mengatakan bahwa anjing itu merupakan hewan yang najis dan letak kenajisannya pada air liur anjing tersebut (Hakim, 2008).

Pada air liur anjing dianggap sebagai najis besar dan kotor disebabkan adanya mikroorganisme patogen yang ada pada air liur tersebut, dimana mikroorganisme yang dimaksud adalah bakteri dan virus yang sangat berbahaya bagi manusia. beberapa penyakit yang biasanya menyerang anjing peliharaan, atara lain : rabies,



leptospirosis, canine distemper, dan parvo virus. Penyakit tersebut dapat menularkan manusia (Sunaryo, 2013).

Oleh karena itu saya melakukan penelitian ini karena berdasarkan uraian di atas, anjing dijelaskan di atas diharamkan karena dianggap najis. Maka dari itu perlu adanya eksplorasi yang menjadi bahan referensi tambahan. Sesungguhnya Allah yang maha mengetahui segala sesuatu.

### **B. Rumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu, jenis bakteri apa yang ada pada air liur anjing (*Canis lupus familiaris*) dengan ras Siberian Husky?

### **C. Ruang Lingkup Penelitian**

Adapun ruang lingkup penelitian ini yaitu:

1. *Canis lupus familiaris* dikenal sebagai jenis anjing peliharaan. Adapun anjing dalam penelitian ini. Warna bulu anjing bisa beraneka ragam, mulai dari putih sampai hitam, abu-abu, dan coklat. Selain itu, anjing memiliki berbagai jenis bulu, mulai dari yang sangat pendek hingga yang panjangnya bisa mencapai beberapa sentimeter. Bulu anjing bisa lurus atau keriting, dan bertekstur kasar hingga lembut seperti benang wol
2. Anjing ras Siberian husky adalah Jenis anjing ras ini berbulu tebal dan sangat menarik serta banyak digemari dan dipelihara oleh masyarakat luas yang diperoleh dari kota makassar. Jalan Gunung Nona No.22-23.

3. Anjing Ras Siberian Husky memiliki lingkungan yang berAC dan terpelihara didalam rumah.
4. Sampel saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Seberian husky diperoleh dengan cara swab (hakim, 2008) dan air liur murni yang ditampung didalam pot sampel steril.
5. Bakteri patogen adalah jenis-jenis bakteri parasit yang menjadi biang penyakit pada makhluk hidup. Bakteri pathogen ini bekerja dengan cara menginfeksi organisme dan sebagai akibatnya, muncul gejala-gejala abnormal yang kita kenali sebagai tanda-tanda penyakit
6. Identifikasi molekuler adalah metode yang dilakukan untuk mengetahui secara pasti spesies mikroorganisme khususnya bakteri patogen dan virus yang ada pada air liur anjing (*Canis lupus familiaris*) Berdasarkan hasil amplifikasi Gen 16S rRNA menggunakan PCR untuk mengetahui jenis bakteri patogen yang selanjutnya disekuensing untuk mengetahui urutan nukleotida. Data nukleotida tersebut dimasukkan dalam program BLAST untuk dicocokkan dengan data spesies pada Gen Bank NCBI.
7. Penelitian ini dilakukan pada tanggal 21 Februari 2018 sampai dengan 27 februari 2018 di Laboratorium molekuler Hasanuddin University Medical Reserch.
8. Pengambilan sampel air liur anjing metode swab dan saliva murni pada satu jenis individu ras Seberian Husky pukul 09.45 tanggal 08 agustus 2017 di jl. Gn. Nona, No.22-24 kota Makassar Sulawesi selatan.

#### **D. Kajian Pustaka**

Dalam kajian pustaka dibahas beberapa temuan hasil penelitian sebelumnya untuk melihat kejelasan arah, originalitas dan posisi dari penelitian ini, dibandingkan dengan beberapa temuan penelitian yang dilakukan sebelumnya yaitu sebagai berikut:

1. Hakim (2008), judul penelitian “Tanah dan sabun tanah sebagai bahan antimikroba terhadap air liur anjing” dengan metode identifikasi molekuler pada tanah dan mikroorganisme pada air liur anjing. Dari hasil penelitian terdapat bakteri yang teridentifikasi pada air liur anjing yaitu bakteri dari genus *Micrococcus* sp. Dengan struktur rata-rata soliter dan ada juga yang struktur bergerombol.
2. Pada penelitian sebelumnya bakteri pada saliva anjing telah diteliti oleh Kikuchi dkk (2004). Menggunakan metode uji molekuler dengan nalisis elektroforesis untuk mengidentifikasi bakteri. Bakteri *Staphylococcus intermedius* yang menyebabkan infeksi pada rongga mastoid manusia setelah anjing menjilat telinga pasien.

#### **E. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui jenis bakteri yang terdapat pada air liur anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Siberian Husky.

## **F. Kegunaan Penelitian**

Adapun kegunaan penelitian ini yaitu:

1. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memeberikan informasi kepada masyarakat luas tentang bakteri dan virus yang ada pada air liur anjing peliharaan (*Canis lupus familiaris*) dengan ras Siberian Husky.
2. Penelitian ini dilakukan guna sebagai penguat atasan kenajisan suatu air liur anjing.



## BAB II

### TINJAUAN TEORITIS

#### A. Ayat dan Hadist yang Relevan

##### 1. Ayat yang Relevan

Adanya berbagai jenis makhluk hidup yang diciptakan oleh Allah di alam semesta ini merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah swt. Menciptakan berbagai jenis makhluk-makhlukNya dengan perbedaan-perbedaan yang jelas, dari yang dapat diamati hingga yang paling spesifik. Dalam satupun ciptaanNya tidak ada satupun yang sia-sia. Sebagaimana firman Allah swt. QS. Al-imran/3 :190-191 yang berbunyi:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي  
الْأَلْبَابِ ۚ ١٩٠ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ يَتَفَكَّرُونَ  
فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا  
عَذَابَ النَّارِ ۚ ١٩١

Terjemahnya:

Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka (Kementrian Agama RI, 2012).



Menurut M. Quraish Shihab (2002) dalam tafsirnya bahwa Sesungguhnya penciptaan langit dan bumi oleh Allah dengan kesempurnaan dan ketepatan, perbedaan antara siang dan malam, cahaya dan kegelapan, rentang panjang dan pendeknya waktu, merupakan tanda- tanda yang jelas bagi mereka yang memiliki akal yang mengetahui keesaan dan kekuasaan Tuhan(1). (1) Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, perbedaan rentang waktu siang dan malam adalah sebagai tanda-tanda kekuasaan Tuhan bagi para Ulû al-Albâb (orang-orang yang berpengetahuan mendalam). Teks ayat tersebut memberi isyarat pada fakta-fakta kosmis yang menunjuk pada keagungan Pencipta. Marilah kita coba mengamati langit. Warna langit bisa tertangkap oleh penglihatan kita berkat radiasi sinar matahari yang mengenai lapisan udara yang menyelubungi bumi. Pada saat radiasi sinar matahari itu jatuh pada atom unsur-unsur kimia yang membentuk molekul udara, dan udara itu sendiri yang menyimpan partikel debu-debu halus dengan gerak balik (refleksi), atom-atom itu memancarkan bias ke berbagai penjuru angkasa. Sebenarnya cahaya warna putih itu merupakan gabungan dari berbagai jenis warna. Di sini atom-atom itu saling menyerap warna-warna itu ke dalam dirinya. Dari beberapa eksperimen didapat kesimpulan bahwa warna yang paling kuat biasanya adalah warna biru.

Hal itu akan semakin menjadi jelas pada saat matahari berada pada puncak ketinggiannya. Kemudian, warna kebiruan itu menjadi berkurang hingga ketika matahari berada di ufuk barat atau timur, bias cahaya matahari itu menembus lapisan udara dari jarak yang relatif amat jauh, sehingga pada posisi seperti ini bias warna

merah terlihat lebih dominan dari warna yang lain. Ringkasnya, cahaya di waktu siang membutuhkan radiasi matahari dan partikel-partikel debu halus dalam porsi yang cukup. Hal itu dibuktikan oleh peristiwa cukup unik yang terjadi pada tahun 1944. Pada waktu tengah hari, secara tiba-tiba langit menjadi gelap dan siang itu hampir-hampir berubah menjadi malam karena pekatnya. Peristiwa itu terjadi beberapa saat, kemudian langit berubah memerah, berangsur-angsur menjadi oranye, menguning dan akhirnya kembali normal kurang lebih satu jam berikutnya. Belakangan diketahui bahwa fenomena alam yang cukup unik itu dilahirkan oleh bias cahaya langit yang berlapis-lapis, membentuk warna abu-abu dan terbawa oleh angin menuju kawasan cukup jauh di bagian tengah Afrika, menuju ke utara melewati bagian barat Asia dan dapat diamati dengan jelas di beberapa kawasan di Syria.

Peristiwa itu bisa ditafsirkan bahwa partikel-partikel halus debu yang beterbangan di angkasa telah menghalangi radiasi matahari, dan ketika semakin menipis warnanya berubah merah, kuning dan seterusnya. Jika pada saat itu orang bisa naik ke angkasa, maka ia akan merasa melewati lapisan udara bumi yang berlapis-lapis, yang masing-masing memiliki corak dan keistimewaan tersendiri. Berangsur-angsur ia akan menyaksikan warna langit menjadi biru pekat, hingga apabila sampai pada lapisan bumi paling luar yang sama sekali tidak mengandung partikel-partikel debu yang ada pada lapisan udara dalam, langit akan tampak gelap bagai malam hari, meskipun matahari berada di ufuk.

Kesimpulannya adalah bahwa di sana ada lapisan langit lain dalam bentuk kubah (celestial sphere) yang warna dan corak masing-masing berbeda dan memanjang sampai ke inti angkasa. Ini salah satu bukti kekuasaan Allah Swt. Cahaya di siang hari membutuhkan jatuhnya radiasi matahari menjadi atom-atom yang terdapat dalam atmosfer bumi, yang membawa gumpalan-gumpalan debu halus dalam porsi yang berbeda.

Telah menjadi ciri Ulû al-Albâb bahwa mereka selalu merenungkan keagungan dan kebesaran Allah dalam hati di mana pun mereka berada, dalam keadaan duduk, berdiri dan berbaring. Mereka selalu merenungkan penciptaan langit dan bumi, dan keunikan yang terkandung di dalamnya sambil berkata, "Tuhanku, tidak Engkau ciptakan jagat ini tanpa ada hikmah yang telah Engkau tentukan di balik itu. Engkau tersucikan dari sifat-sifat serba kurang, bahkan ciptaan-Mu itu sendiri adalah bukti kekuasaan dan hikmah-Mu. Hindarkanlah kami dari siksa neraka, dan berilah kami taufik untuk menaati segala perintah-Mu.

## 2. Hadist yang Relevan

Adapun hadist yang mengatakan bahwa anjing sebagai sesuatu yang najis, yang disebabkan oleh air liur yang terkutip dalam hadist riwayat muslim yang berbunyi:

إِذَا وَلَغَ الْكَلْبُ فِي الْإِنَاءِ فَاغْسِلُوهُ سَبْعَ مَرَّاتٍ وَعَقِّرُوهُ الثَّامِنَةَ فِي الثَّرَابِ

Artinya:

“ jika diantara bejana kalian terkena hirupan anjing adalah dicuci tujuh kali salah satunya dengan tanah.” (HR. Muslim.)

Pada asalnya segala sesuatu jika terkena najis maka pensuciannya cukup sekali jika telah mampu menghilangkan najis tersebut. Adapun jika belum hilang dengan suatu cucian maka hendaklah dicuci lagi hingga hilang, kecuali jika najisnya akibat air liur anjing maka barang yang terkena najis tersebut apapun itu wajib dicuci tujuh kali yang pertama menggunakan tanah. Tanah termasuk golongan-golongan utama yang menyusun populasi mikrobiologis termasuk bakteri.

## **B. Tinjauan Umum Anjing**

Anjing adalah mamalia karnivora yang telah mengalami domestikasi dari serigala sejak 15.000 tahun yang lalu atau mungkin sudah sejak 100.000 tahun yang lalu berdasarkan bukti genetik berupa penemuan fosil dan tes DNA. Penelitian lain mengungkap sejarah domestikasi anjing yang belum begitu lama. Anjing telah berkembang menjadi ratusan ras dengan berbagai macam variasi, mulai dari anjing tinggi badan beberapa puluh cm seperti Chihuahua hingga Irish Wolfhound yang tingginya lebih dari satu meter. Warna bulu anjing bisa beraneka ragam, mulai dari putih sampai hitam, juga merah, abu-abu dan coklat. Selain itu, anjing memiliki berbagai jenis bulu, mulai dari yang sangat pendek hingga yang panjangnya bisa mencapai beberapa cm. Bulu anjing bisa lurus atau keriting, dan bertekstur kasar hingga lembut seperti benang wol (AKC, 1992 dalam *skripsi* Hakim, 2008: 4)

1. Klasifikasi anjing menurut Buku taksonomi vertebrata (2014).

Kingdom : Animalia  
 Filum : Chordata  
 Kelas : Mammalia  
 Ordo : Canidae  
 Genus : *Canis*  
 Species : *C. lupus familiaris* (Linnaeus, 1758).

Anjing pertama kali didomestikasi di Asia Timur, kemungkinan di Tiongkok. Manusia pertama yang menginjakkan kaki di Amerika Utara membawa serta anjing dari Asia. Penelitian genetika telah berhasil mengidentifikasi 14 ras anjing kuno. Di antaranya, Chow Chow, Shar Pei, Akita, Shiba dan Basenji merupakan ras anjing yang tertua. Teori yang mengatakan anjing berasal dari Asia mungkin bisa dipercaya karena sebagian besar dari 14 ras anjing kuno berasal dari China dan Jepang (Fiennes dan Fiennes, 1968 dalam skripsi Hakim, 2008).

2. Ciri Fisik Anjing (*Canis lupus familiaris*)

Anjing ras sangat bervariasi dalam ukuran, penampilan dan tingkah laku dibandingkan dengan hewan peliharaan yang lain. Sebagian besar anjing masih mempunyai ciri-ciri fisik yang diturunkan dari serigala. Anjing adalah hewan pemangsa dan hewan pemakan bangkai, memiliki gigi tajam dan rahang yang kuat untuk menyerang, menggigit, dan mencabik-cabik makanan. Ciri-ciri khas dari moyang serigala masih bertahan pada anjing, walaupun penangkaran secara selektif telah berhasil mengubah bentuk fisik berbagai jenis anjing ras. Anjing memiliki otot



yang kuat, tulang pergelangan kaki yang bersatu, sistem kardiovaskuler yang mendukung ketahanan fisik serta kecepatan berlari, dan gigi untuk menangkap dan mencabik mangsa. Bila dibandingkan dengan struktur tulang kaki manusia, secara teknis anjing berjalan berjingkat dengan jari-jari kaki.

### 3. Anjing peliharaan

Hewan peliharaan merupakan binatang yang dijinakkan dan diurus oleh pemiliknya, serta memiliki hubungan emosional dengan keduanya. Ikatan emosional akan membentuk sebuah hubungan antara manusia dengan hewan. Hubungan tersebut telah banyak terbukti dan diteliti memberikan manfaat positif untuk pemiliknya baik itu dalam hal fisik, psikologi dan kesejahteraan sosial. Dimana hal ini membuat hewan peliharaan akan menjadi suatu kebutuhan yang semakin penting dalam rumah tangga modern (Chen *et al.*, 2012).

Berbagai hewan yang dapat diklasifikasikan sebagai hewan peliharaan, anjing memiliki tingkat perkembangan yang tinggi dan menarik. Menurut hasil penelitian, anjing dapat membedakan dua jenis bau: partikel bau di udara yang menyebar dari orang atau benda, dan partikel bau di tanah yang masih bisa dideteksi setelah beberapa lama. Karakteristik dua jenis partikel bau kelihatannya cukup berbeda. Partikel bau yang ada di udara mudah hilang, tapi mungkin begitu jelas dan tidak bercampur bau-bauan yang lain, sedangkan partikel bau di tanah relatif lebih permanen. Anjing pelacak harus diajak melakukannya secara berulang-ulang dan berhati-hati, karena bau yang melekat di tanah mudah tercemar dengan bau-bauan yang lain (Hakim, 2008: 22).

Ada beberapa jenis spesies anjing yang pada umumnya dipelihara oleh masyarakat, seperti:

a. Siberian Husky

Jenis anjing ras ini berbulu tebal dan sangat menari awalnya ditemukan pada salah satu daerah di Alaska pada tahun 1925. Anjing dengan ras Siberian husky termasuk dalam jenis anjing ras yang memiliki sifat baik dan manja terhadap manusia. Anjing ini memiliki postur tubuh yang proporsional antar kepala, Panjang tubuh dan tulang kaki. Jantan siberian husky memiliki tinggi antara 53,5 cm hingga 60 cm sedangkan betina antar 50,5 hingga 56 cm. berat badan dewasa berkisar 20 hingga 27 kg, sedangkan berat badan betina 18 hingga 24 kg. mata jenis anjing ini ada yang berwarna biru dan coklat almond dan adapula yang memiliki dua warna sekaligus. Warna bulu pada anjing ini memiliki beberapa corak warna dasar yaitu hitam dan putih, abu-abu putih, coklat kemerahan dengan putih.



Gambar 2.3.1. Anjing (*Canis lupus familiaris*) dengan ras Siberian husky

b. Labrador Retriever

Anjing Labrador berasal dari Inggris, anjing ini pertama kali dikenal di New Foundland pada abad ke- 19. Di Inggris, anjing ini banyak dilatih untuk mencari

barang dalam suatu permainan. Dan ketajaman insting dan indranya, anjing ini akhirnya banyak digunakan sebagai anjing pelacak, seperti pelacak bahan peledak dan narkotika. Anjing Labrador merupakan anjing yang cerdas, pering, dan mempunyai sifat alamiah sebagai anjing pemburu, baik berburu di darat maupun di perairan. Selain sebagai anjing pelacak, anjing ini banyak digunakan sebagai anjing penuntun orang buta, anjing SAR, dan anjing keluarga. Sifatnya yang setia dan selalu waspada merupakan kelebihan anjing ras ini. Tinggi badan Labrador 54 – 57 cm dan berat badannya 25 – 30 kg, bulunya pendek, tebal, lurus, dan kasar. Umumnya warna bulu Labrador adalah warna tunggal hitam, cokelat, kuning, atau krem.



Gambar 2.3.2. Anjing (*Canis lupus familiaris*) dengan ras Labrador Retriever

c. Golden Retriever

Golden retriever adalah anjing yang berasal dari eropa. Anjing ini pertama kali ditemukan pada pertengahan abad ke- 19, tepatnya ketika Dudley Majoribanks yang mendapat julukan Lord Tweetham menyilangkan anjing Yellow wafy coated retriever dengan anjing tweed water spaniel. Hasil keturunannya dikenal dengan nama Golden Flatcoats dan pada decade 1920-an dikenal dengan nama Golden retriever. Anjing ini pada mulanya banyak digunakan sebagai anjing untuk berburu.

Umumnya golden retriever berbulu lebat, ikal di bagian dada, dan berwarna kuning keemasan, baik gelap, pucat maupun kusam. Anjing ini mempunyai badan yang lebar, bertulang kuat, berdada lebar, dan agak mendalam, serta berpunggung lurus. Telinganya besar dan agak ke depan. Bobot anjing jantan 32 – 37 kg dan tingginya 56 – 61 cm, meskipun ada juga yang mencapai 90 cm. Sementara itu bobot anjing betina 27 – 32 kg dan tingginya 51 – 56 cm.

Golden retriever ini sangat cerdas, periang dan tidak mudah menyerah, dan penciumannya sangat tajam, sehingga bisa difungsikan sebagai anjing pelacak, penjaga, dan bisa juga dilatih sebagai penuntun orang buta. Sifatnya yang ramah menjadikan anjing ini bisa dijadikan sebagai anjing keluarga dan bisa berkawan dan bisa diajak bermain oleh anak-anak.



Gambar 2.3.3. Anjing (*Canis lupus familiaris*) dengan ras Golden retriever

#### d. Doberman

Doberman merupakan salah satu anjing penjaga unggulan. Doberman sangat setia dan konsekuen terhadap tanggung jawabnya. Tanggung jawabnya ditunjukkan dengan pandangan matanya yang tajam terhadap benda atau objek yang dijaganya. Anjing yang sosoknya sangat agresif terhadap orang asing atau penjahat yang mencoba mendekati wilayah teritorialnya atau benda yang dijaganya. Sifat

anjing ini adalah pemberani, penuh percaya diri, selalu siap siaga, serta daya penciuman dan pendengarannya sangat tajam.

Anjing ras berukuran sedang ini tubuhnya sangat kekar dan kompak. Umumnya warna bulu Doberman warna hitam dengan campuran cokelat atau kekuningan di bagian kepala, sebagian leher dan kaki bagian bawahnya. Tinggi Doberman bisa mencapai 68 cm.



Gambar 2.3.4. Anjing (*Canis lupus familiaris*) dengan ras Doberman

e. Pitt bul

Anjing boxer merupakan salah satu anjing penjaga dari Jerman. Anjing ras yang masuk ke Indonesia pada zaman penjajahan ini mempunyai karakter setia, dan sekali melangkah pantang menyerah. Tinggi badannya 56, 25 – 62, 5 cm (jantan) dan 52, 5 – 58, 25 (betina). Keistimewaan anjing cerdas ini adalah bentuk kepalanya yang nyeleneh dengan rahang bagian bawah lebih panjang dari pada rahang atas. Warna bulu anjing boxer umumnya cokelat kekuningan dan belang-belang. Sebagai anjing pemburu, pekerja, penjaga, pelacak, boxer mempunyai gigitan atau daya cengkeram rahang yang kuat.



Gambar 2.3.5. Anjing (*Canis lupus familiaris*) dengan ras Pitt bul

f. Rottweiler

Rottweiler merupakan salah satu anjing yang paling banyak digunakan oleh lembaga kepolisian. Anjing yang bertampun sera mini merupakan tipe anjing penjaga yang serba bisa. Karenanya anjing ini sering digunakan sebagai anjing penjaga, pelacak, pemburu, dan penjaga ternak. Anjing ini pertama kali dimanfaatkan tentara romawi untuk berperang. Perkembangannya di luar Jerman dimulai sejak akhir abad ke-19. Anjing tergolong cerdas ini mempunyai temperamen yang kuat, agresif, dan patuh. Rottweiler mempunyai kecerdasan di atas rata-rata anjing. Selain mempunyai tenaga yang kuat, Rottweiler juga sangat pemberani dalam membelah majikan dan daerahnya dari gangguan. Anjing banyak digunakan sebagai anjing pelacak oleh kepolisian ini mempunyai daya penciuman dan pendengaran yang sangat tajam, sehingga tugasnya dalam melacak pelaku kejahatan, serta mencari dan menemukan barang yang hilang hampir tidak pernah gagal.

Umumnya tubuh Rottweiler sangat kuat dengan tulang yang kokoh. Tinggi tubuh anjing ini 63 – 69 cm dengan warna bulu hitam dan sering bercampur dengan warna cokelat muda atau cokelat kemerahan (Sianipar, 2004).



Gambar 2.3.6. Anjing (*Canis lupus familiaris*) dengan Rottwiller

### C. Air Liur Anjing

Air liur anjing dihasilkan oleh kelenjar saliva yang termasuk di dalam aksesoris sistem digestivus (*apparatus digestorius*). *Apparatus* digestivus terdiri dari rongga mulut, *pharynx*, *alimentary canal* dan kelenjar aksesorius. Kelenjar aksesorius terdiri dari gigi, lidah, kelenjar ludah, hati, *gallbladder*, pankreas dan kantung anal (Evans 1993).

Kelenjar saliva terbagi menjadi 2 bagian yaitu kelenjar saliva mayor yang terdiri dari kelenjar parotid, mandibular, sublingual dan kelenjar zygomaticus, sedangkan kelenjar saliva minor terdapat pada daerah *ventral buccalis*. Kelenjar saliva major berfungsi mengeluarkan saliva pada saat anjing sedang mengunyah sehingga makanan yang dikunyah akan terbentuk menjadi bolus dan kemudian di lubrikasi dengan air liur tersebut sehingga memudahkan proses penelanan makanan. Sedangkan fungsi dari kelenjar saliva minor adalah sebagai penunjang kelenjar saliva mayor (Peter C 1997). Sekresi saliva distimulasi oleh *N. Facialis* (superior) dan *N. Glossopharyngeus* (inferior), keduanya dipengaruhi oleh sistem saraf simpatis (komposisi air liur) dan parasimpatis (volume air liur). Sedangkan rangsangan



terhadap sekresi saliva dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain: panca indera (perasa, penciuman dan penglihatan), mekanik (mastikasi), iritasi atau infeksi, hormonal (bradikinin), dan obat (atropin) (Sjuhada 2007).

Kandungan yang terdapat di dalam air liur anjing yaitu kandungan protein enzimatik dan non-enzimatik, kalsium, fosfor, natrium, nitrogen, oksigen, karbondioksida dan sel epitel rongga mulut. Pada anjing air liur ini juga berfungsi sebagai media pembawa dari penyakit zoonosis yaitu rabies atau biasa disebut penyakit anjing gila yang disebabkan oleh virus Rabies yang berasal dari Genus *Lyssavirus* Family Rhabdovirus, bersifat akut dan menyerang susunan syaraf pusat (Badan Karantina Pertanian, 2007).

Menurut hasil penelitian seorang orientalis, suatu wadah yang dikenai air liur anjing ternyata mengandung kuman penyakit (rabies) yang anehnya hanya bisa dihilangkan jika dicuci dengan tanah. Kesimpulan itu didasarkan pada eksperimennya dengan meletakkan dua wadah yang dijilati anjing, di bawah mikroskop, yang masing-masing dicuci sebanyak tujuh kali namun salah satunya dicuci dengan deterjen dan yang satunya dicuci air dicampur dengan tanah. Ternyata wadah bekas jilatan anjing yang dicuci dengan deterjen masih tampak kuman penyakit, sedangkan wadah yang dicuci dengan air campur tanah kelihatan bersih (dalam pengamatan di bawah mikroskop) (Sjuhada, 2006).

#### ***D. Tinjauan Umum Bakteri***

Bakteri adalah kelompok organisme yang tidak memiliki membrane inti sel. Organisme ini termasuk ke dalam domain prokariota dan berukuran sangat kecil (mikroskopik), serta memiliki peran besar dalam kehidupan di bumi. Beberapa kelompok bakteri dikenal sebagai agen penyebab infeksi dan penyakit, sedangkan kelompok lainnya dapat memberikan mamfaat dibidang pangan, pengobatan, dan industri. Struktur sel bakteri relative sederhana: tanpa nukleus/inti sel, dan organel-organel lain seperti mitokondria dan kloroplas. Hal inilah yang menjadi dasar perbedaan antara sel prokariotik dengan sel eukariotik yang lebih kompleks (Colome, 2001).

Bakteri tersusun atas dinding sel dan isi sel. Di sebelah luar dinding sel terdapat selubung atau kapsul. Di dalam sel bakteri tidak terdapat membran dalam (endomembran) dan organel bermembran seperti kloroplas dan mitokondria. Berikut akan disajikan susunan sel bakteri, berturut-turut dari dinding sel, membrane sitoplasma, dan sitoplasma (Irianto, 2006).

Bakteri adalah mahluk hidup yang sangat kecil dan hanya dapat dilihat dengan mikroskop. Untuk menyelidiki ukuran bakteri, dalam pemeriksaan mikrobiologis biasanya digunakan satuan mikron (diberi symbol huruf  $\mu$  m), seperti misalnya pada pengukuran virus. Bakteri yang biasa diteliti di laboratorium kebanyakan berukuran antara 0,5-2  $\mu$  m lebarnya dan 1-5  $\mu$  m panjangnya. Dahulu, pengukuran ini dilakukan dengan jalan membandingkan ukuran butir darah merah, yang pada waktu itu sudah diketahui besarnya (Irianto, 2006).

Bentuk bakteri bermacam-macam, yaitu sebagai berikut:

### 1. Bakteri Berbentuk Bulat (Bola)

Bakteri berbentuk bulat atau bola dinamakan Kokus (*coccus*); dapat dibedakan atas:

- a. *Monococcus*, yaitu bakteri berbentuk bola tunggal, misalnya *Neisseria gonorrhoeae*, penyebab penyakit kencing nanah.
- b. *Diplococcus*, yaitu bakteri berbentuk bola yang bergandengan dua-dua, misalnya. *Diplococcus pneumonia*, penyebab penyakit pneumonia atau radang paru-paru.
- c. Sarkina, yaitu bakteri berbentuk bola yang berkelompok empat-empat, sehingga bentuknya mirip kubus.
- d. *Streptococcus*, yaitu bakteri bentuk bola yang berkelompok memanjang membentuk rantai.
- e. *Staphylococcus*, yaitu bakteri berbentuk bola yang berkoloni membentuk sekelompok sel tidak teratur, sehingga bentuknya mirip dompolan buah anggur.

### 2. Bakteri Berbentuk Batang

Bakteri berbentuk batang dinamakan *bacillus* (*bacillus* yang berarti batang).

Bentuk basilus dapat pula dibedakan atas:

- a. Basil tunggal, yaitu bakteri yang hanya berbentuksatu batang tunggal misalnya *Salmonella typhi*, penyebab penyakit tifus.
- b. Diplobasil, yaitu bakteri berbentuk batang yang bergandengan dua-dua.
- c. Streptobasil, yaitu bakteri berbentuk batang yang bergandengan memanjang membentuk rantai misalnya *Bacillus anthracis* penyebab penyakit antraks.

### 3. Bakteri Berbentuk Melilit

Bakteri berbentuk melilit, yang dinamakan spirillum atau spiral. Ada tiga macam bentuk spiral, yaitu sebagai berikut.

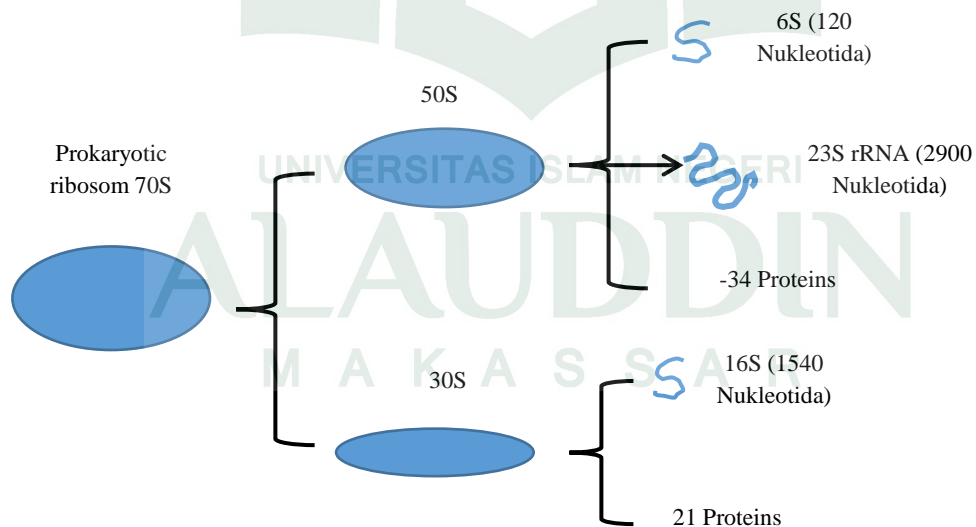
- a. Spiral, yaitu golongan bakteri yang bentuknya seperti spiral, misalnya Spirillum. Sel tubuhnya umumnya kaku.
- b. Vibrio atau bentuk koma yang dianggap sebagai bentuk spiral tak sempurna, misalnya Vibrio cholera penyebab penyakit kolera.
- c. Spirochaeta (baca: spiroseta), yaitu golongan bakteri berbentuk spiral yang bersifat lentur. Pada saat bergerak, tubuhnya dapat memanjang dan mengerut (Irianto, 2006).

Ada beragam jenis bakteri, salah satunya adalah kelompok patogenik. Untuk memahami kelompok bakteri yang satu ini, bisa dimulai dari istilah “patogenik” itu sendiri. Secara harfiah, istilah ini mengakar pada bahasa Yunani kuno yang berarti penyebab penderitaan. Jadi secara sederhana, bakteri patogen bisa diartikan sebagai jenis bakteri yang menjadi sumber penderitaan. Dalam kajian yang lebih lengkap, bakteri patogen adalah jenis-jenis bakteri yang menjadi biang penyakit pada makhluk hidup. Bakteri patogen ini bekerja dengan cara menginfeksi organisme dan sebagai akibatnya, muncul gejala-gejala abnormal yang kita kenali sebagai tanda-tanda penyakit. Sebagian dari bakteri patogen ini tidak terasa di tubuh, namun tak jarang pula yang menyebabkan penyakit serius semacam HIV, SARS, Flu Burung dan masih banyak lagi lainnya.

### E. Tinjauan Tentang Identifikasi Molekuler Melalui Amplifikasi Gen 16S-rRNA

rRNA (ribosomal RNA) merupakan salah satu jenis molekul dari tiga jenis molekul RNA hasil transkripsi (tRNA, mRNA dan rRNA). rRNA dan protein ribosomal membentuk suatu kompleks menjadi partikel ribonukleoprotein yang disebut ribosom. Ribosom inilah yang berperan dalam sintesis protein (Gaffar, 2007 dalam Arham, 2015).

Ribosom organisme prokariotik merupakan organ sel berukuran 70S dan terdiri dari 2 subunit besar dan kecil berukuran 30S dan 50S, dimana huruf S menyatakan konstanta Svedberg yaitu satuan koefisien sentrifugasi (Gambar 2.2). Subunit 30S mengandung rRNA berukuran 16S dan protein sebanyak 21 buah. Sedangkan subunit 50S mengandung rRNA berukuran 5S dan 23S serta protein sebanyak 34 buah (Wulandari, 2011).



Gambar 2.2 Struktur ribosom pada prokariot (Sumber: Usml, 2012 dalam Arham, 2015)

Diantaranya ketiganya, 16S rRNA merupakan rRNA yang paling sering digunakan untuk mengidentifikasi bakteri, karena panjang basanya ideal yaitu 1540 nukleotida sehingga informasi genetik yang dimilikinya cukup banyak dan lebih mudah diolah (Madigan et al., 1997 dalam Arham, 2015). Molekul 5S rRNA memiliki urutan basa terlalu pendek yaitu 120 nukleotida, sehingga tidak ideal dari segi analisis statistika, sementara itu molekul 23S rRNA memiliki struktur sekunder dan tersier yang cukup panjang yaitu sekitar 2900 nukleotida, sehingga sulit untuk dianalisis (Pangastuti, 2006).

Molekul rRNA sangat khas karena disusun oleh daerah-daerah konservasi yang lebih tinggi dan lebih secara evolusioner. Beberapa segmen RNA berevolusi sangat lambat sehingga filogeni dari taksa yang berdekatan dapat dikonstruksi kembali. Bagian lain cukup bervariasi sehingga dapat dipakai untuk menggolongkan spesies ke dalam genus. Banyaknya posisi pada molekul 16S rRNA dan 23S rRNA yang berevolusi secara bebas menyediakan data untuk menduga hubungan filogenetik sekelompok mikroba (Drancourt *et al.*, 2000).

Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan analisis fenotipik dengan mempelajari sifat fisiologis atau biokimianya (Hadioetomo, 1993) maupun analisis genotipik secara molekuler. Seringkali hasil uji biokimia atau fisiologi tersebut berbeda karena perbedaan ekspresi gen. untuk karakterisasi galur-galur dalam satu spesies perlu dilihat sifat yang paling mendasar dan relatif stabil yang analitik genotipik (Singleton, 1995). Beberapa tujuan identifikasi dengan menggunakan karakter fenotip sebagian besar dapat terpenuhi, namun terdapat juga

beberapa keterbatasan dalam mengidentifikasi bakteri secara fenotipik. Seperti adanya bakteri yang pertumbuhannya menyulitkan (tidak dapat dikulturkan), banyaknya variasi morfologi, rekasi biokimia yang berubah-ubah dan belum adanya pengenalan (rekognisi) karakter sebelumnya (Han *et al.*, 2002). Kemajuan teknologi telah mengatasi keterbatasan ini, salah satunya yang diwujudkan yaitu identifikasi dengan cara menganalisis urutan nukleotida 16S ribosomal RNA (16S rRNA) yang muncul sebagai metode identifikasi yang akurat dalam mengidentifikasi bakteri (Drancourt *et al.*, 2000)

Identifikasi menggunakan molekul yang dikode 16S rRNA dikarenakan beberapa alasan yaitu: (1) bersifat universal pada kelompok organisme prokariotik; (2) urutan nukleotidanya bersifat konservatif dan variatif; (3) jumlahnya melimpah dalam sel; (4) memenuhi ukuran untuk perhitungan statistika (tidak terlalu panjang dan tidak terlalu pendek); (5) ketersediaan informasi (data bank/database di GenBank) (Madigan *et al.*, 2008). Molekul 16S rRNA memiliki beberapa daerah yang memiliki urutan basa yang relatif konservatif dan beberapa daerah urutan basanya variatif. Perbandingan urutan basa yang konservatif berguna untuk mengkonstruksikan pohon filogenetik universal karena mengalami perubahan relatif lambat dan mencerminkan kronologi evolusi bumi. Sebaliknya, urutan basa yang variatif dapat digunakan untuk melacak keragaman dan menempatkan galur-galur dalam satu spesies (Pangastuti, 2006).

Kunci untuk mengerti keragaman mikroba adalah sistem klasifikasi yang dapat diandalkan. Secara tradisional, bakteri diklasifikasikan terutama berdasarkan



sifat-sifat fenotipik. Akan tetapi hasilnya tidak selalu dapat diandalkan secara filogeni. Metode molekuler terutama klasifikasi dan identifikasi berbasis filogenetik, menggunakan parameter yang tidak bergantung pada kondisi pertumbuhan media yang digunakan. Pendekatan yang umum dipakai saat ini adalah analisis sekuen gen 16S rRNA (Case *et al.*, 2007).

Identifikasi bakteri dengan 16S rRNA dilakukan berdasarkan perbandingan urutan basa yang konservatif. Data urutan basa dari berbagai spesies mikroba telah dikumpulkan dalam sebuah database yang dapat diakses. Kumpulan data spesies tersebut memuat data klasifikasi, diagnosa dilakukan analisis berdasarkan perasamaan urutan basa menggunakan jarak matrik, metode yang sering digunakan adalah Multiple Sequence Alignment (MSA), sebuah metode yang akan mengelompokkan suatu strain berdasarkan derajat kesamaan urutan basa antar spesies (Wulandari, 2011).

Didasarkan pada prinsip amplifikasi gen 16S rRNA dengan teknik PCR menggunakan DNA template yang diisolasi dari lingkungan dapat dibuat pustaka klon gen tersebut. Sekuen gen 16S rRNA selanjutnya dapat digunakan untuk menduga sifat-sifat organisme yang belum dapat dikulturkan; mengidentifikasi model untuk kultivasi (dari kerabat dekat); sintesis pelacak oligonukleotida untuk tujuan identifikasi; pemisahan morfologi; fisik; deteksi pertumbuhan spesifik dalam kultur campuran, memantau distribusinya di alam dan mengevaluasi laju pertumbuhan relative in situ; dan survei keragaman hayati dengan cepat dan komprehensif. Karena kemudahan dan kecepatannya, saat ini teknik PCR digunakan

secara luas sebagai metode pilihan untuk mengamplifikasi fragmen DNA spesifik. Terdapat beberapa primer universal yang umum digunakan untuk mengamplifikasikan gen 16S rRNA bakteri, diantaranya 23F dan 24F serta 1392R dan 1492R (penomoran primer mengikuti konsensus sekuen 16S rRNA E.coli).

#### ***F. Tinjauan Tentang PCR (Polymerase Chain Reaction)***

Reaksi polimer berantai atau PCR adalah suatu proses perbanyakan DNA secara in vitro enzimatik dengan pengontrolan suhu (Weising *et al.*, 2005) sedangkan menurut (Yuwono, 2006) PCR adalah suatu metode enzimatik untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu atau DNA dengan cara in vitro. PCR juga merupakan suatu reaksi in vitro untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target dengan bantuan enzim polimerase dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu termocycler. Primer yang berada sebelum daerah target disebut primer forward dan yang berada setelah daerah target disebut primer reverse. Primer umumnya mempunyai panjang 9 sampai 25 basa dan menentukan situs dimulainya replikasi DNA (Stansfield *et al.*, 2006). Teknik PCR digunakan untuk memperbanyak sekuen DNA tertentu dengan waktu relatif singkat. Dengan PCR, molekul DNA dapat diperbanyak sampai jutaan kopi. Oleh karena itu teknik ini bisa disebut amplifikasi DNA (Muladno, 2002).

PCR adalah teknik cepat untuk mengamplifikasikan fragmen DNA spesifik secara in vitro dengan menggunakan sepasang primer untai tunggal pendek (primer

*forward* dan *reverse*). Sejumlah kecil fragmen DNA (Deoxyribonucleic Acid) yang diinginkan dapat diamplifikasi secara berulang-ulang sampai jutaan kali dalam beberapa jam menggunakan teknik ini. PCR merupakan metode yang sensitif, selektif, dan cepat dalam menggandakan DNA target yang diinginkan (Murray *et al.*, 2003), sehingga dari satu pasang molekul DNA dapat diperbanyak menjadi jutaan kali lipat setelah 30-40 siklus PCR (Campbell *et al.*, 2002). Dalam prosesnya PCR dapat secara cepat mengubah temperatur yang dibutuhkan untuk siklus berulang. Beberapa komponen penting yang dibutuhkan dalam proses PCR yaitu DNA target (DNA cetakan yang akan diamplifikasi), sepasang primer oligonukleotida (primer *forward* dan *reverse*), enzim Taq DNA polymerase yang tahan panas, *deoxynucleoside triphosphate* (dNTP) serta larutan penyangga (buffer) (Muladno, 2002).

Tujuan dari PCR adalah untuk membuat sejumlah besar duplikasi suatu gen. hal ini diperlukan agar diperoleh jumlah DNA cetakan awal yang cukup untuk sekuensing DNA ataupun untuk memperoleh material genetik yang diperlukan dalam proses rekayasa genetika. Tahapan pengerjaan PCR secara umum terdiri dari isolasi DNA/RNA, pengecekan integritas isolat DNA/RNA secara spektrofotometri atau elektroforesis, pencampuran komponen fraksi PCR, pemrograman mesin PCR pada kondisi optimum, amplifikasi reaksi dan deteksi/evaluasi hasil reaksi (Sari, 2006). Cara kerja PCR dimulai dari pengikatan dua oligonukleotida (primer) yang telah diketahui komposisinya ke suatu sekuens target yang diinginkan. Kemudian, DNA polimerase akan memperpanjang oligonukleotida tersebut. Setiap reaksi akan diulang

setelah tahap denaturasi sehingga terjadilah amplifikasi (penguatan) secara eksponensial (Stansfield, 2006).

PCR melibatkan banyak siklus yang masing-masing terdiri atas tiga tahap berurutan yaitu pemisahan utas DNA pada suhu yang tinggi (denaturasi), penempelan (annealing) pasangan primer pada DNA target dan pemanjangan primer (extension) atau reaksi polimerisasi yang dikatalis oleh DNA polymerase. Ketiga tahap tersebut masing-masing memerlukan suhu yang berbeda. Tahapan-tahapan tersebut adalah sebagai berikut:

1. Pemisahan DNA (Denaturasi)

Tahap ini merupakan tahap pengudaran DNA utas ganda menjadi DNA utas tunggal, dimana masing-masing untai dapat mencetak pasangannya (komplementer). Hal tersebut disebabkan karena suhu denaturasi yang tinggi yang menyebabkan putusnya ikatan hidrogen diantara basa-basa yang komplemen. Tahap denaturasi biasanya berlangsung antara suhu 94°C hingga 96°C dilakukan sampai 5 menit untuk memastikan semua utas tunggal sebagai DNA terpisah. Semakin panjang untaian rantai DNA, semakin lama waktu yang diperlukan untuk tahap denaturasi (Berg *et al.*, 2007).

2. Penempelan primer pada cetakan DNA (Annealing)

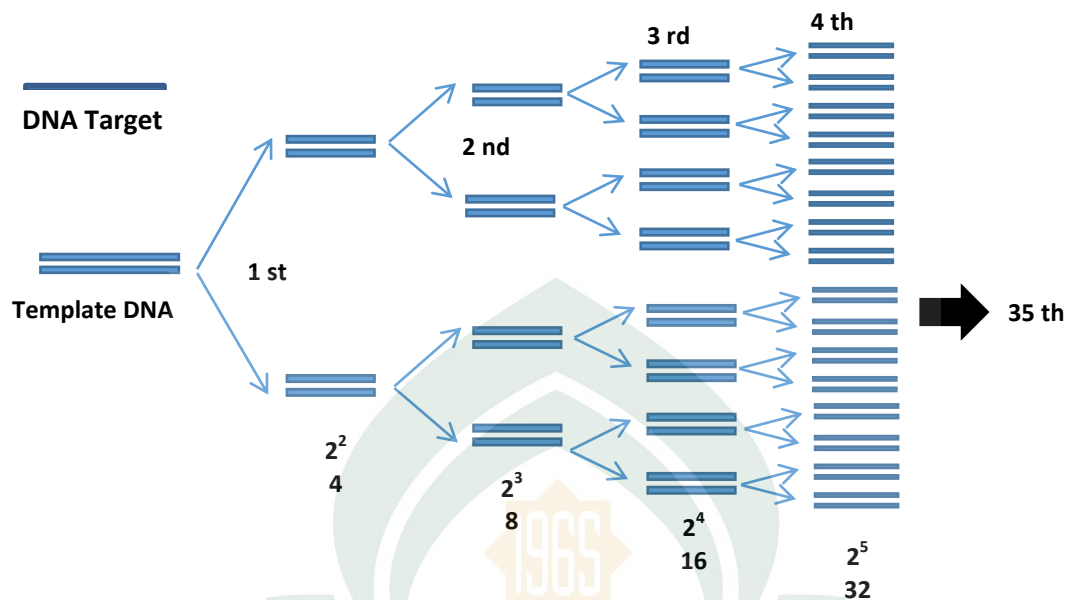
Tahap ini merupakan tahap penempelan primer pada utas DNA cetakan yang telah terdenaturasi menjadi utas tunggal akibat kecocokan pasangan basa. Primer menempel pada bagian DNA cetakan yang memiliki urutan basa komplementer dengan urutan basa primer. Pada proses annealing ini, ikatan hidrogen akan terbentuk

antara primer dengan urutan komplemen pada template. Tahap annealing biasanya dilakukan pada suhu sekitar 42°C hingga 65°C. selanjutnya DNA polimerase akan berikatan sehingga ikatan hidrogen tersebut akan menjadi sangat kuat dan tidak akan putus apabila dilakukan reaksi polimerisasi selanjutnya, misalnya pada suhu 72°C.

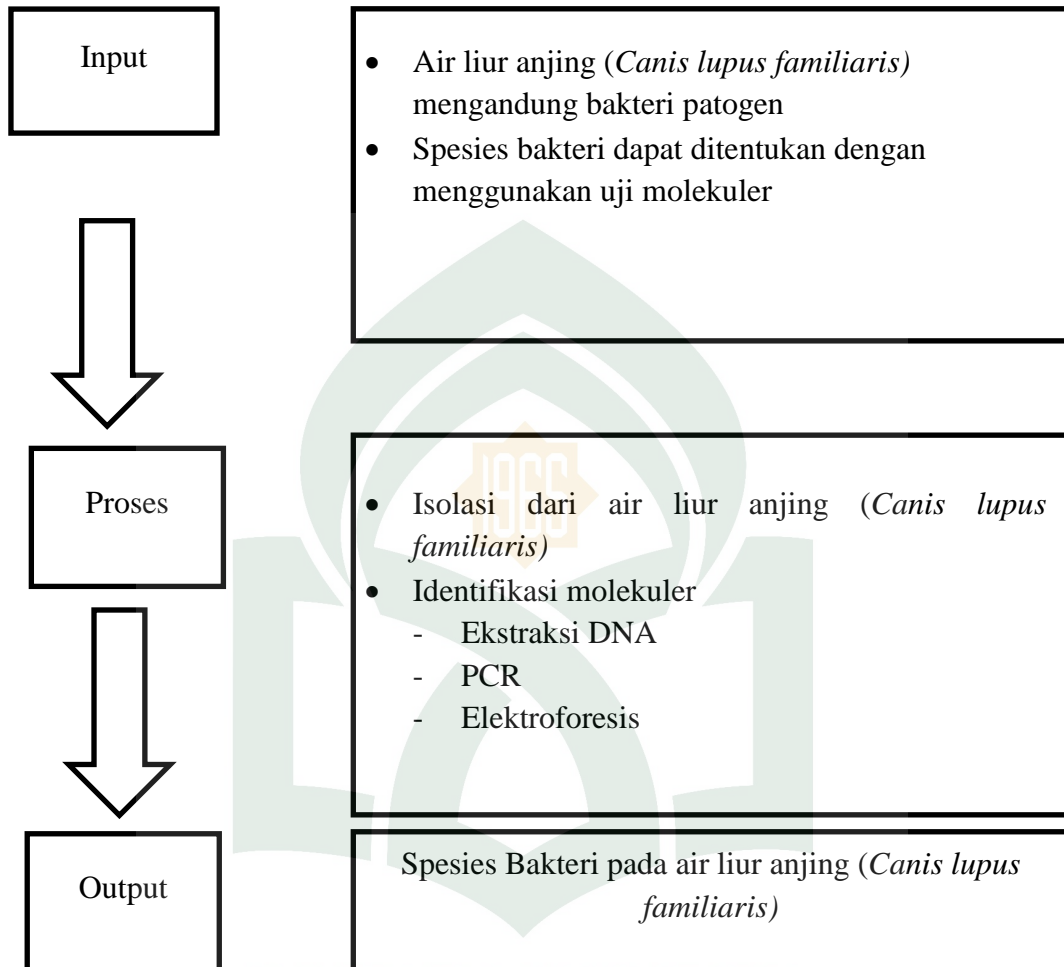
### 3. Pemanjangan primer DNA (Extension)

Setelah primer menempel pada utas tunggal DNA cetakan, maka DNA polimerase akan mensintesis utas DNA yang baru berdasarkan utas DNA cetakan. DNA polimerase mulai mensintesis DNA dengan mengikatkan deoksinukleotida pada ujung 3'-OH dari primer, sehingga arah pertumbuhan utas DNA yang baru adalah 5'-P ke 3'-OH. Sintesis DNA atau pemanjangan primer ini dilakukan pada suhu cukup tinggi, yaitu sekitar 72°C supaya tahap berikutnya (denaturasi protein) relatif lebih mudah dan enzim Taq DNA polimerase dapat bekerja optimal.

Di dalam proses PCR, terjadi siklus yang berulang. 1 copy DNA setelah satu siklus akan menjadi 2 copy, sesudah 2 siklus akan menjadi 4 copy, sesudah 3 siklus akan menjadi 8 copy dan seterusnya. Sehingga perubahan ini akan berlangsung secara eksponensial (Gaffar, 2007). Hasil amplifikasi dapat dilihat dengan melakukan migrasi di dalam gel (elektroforesis). Seperti pada gambar 2.3, siklus PCR biasanya berlangsung 35-40 siklus.



Gambar 2.3 Ilustrasi amplifikasi PCR (Sumber: Vierstraete, 1999 dalam Arham, 2015)

**G. Kerangka Pikir**



### **BAB III**

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **A. Jenis dan Pendekatan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif dengan pendekatan eksploratif untuk mengidentifikasi bakteri pada air liur anjing (*C. lupus familiaris*) dengan ras Siberian husky.

### **B. Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian identifikasi molekuler bakteri pada saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Siberian husky dilakukan pada tanggal 22-23 Agustus 2017 di Laboratorium molekuler Rumah Sakit Pendidikan.

### **C. Variabel Penelitian**

Penelitian ini memiliki variabel tunggal yaitu jenis bakteri yang terdapat pada air liur anjing (*C. lupus familiaris*) dengan ras Siberian husky.

### **D. Definisi Operasional Variabel**

1. Bakteri saliva ras Siberian husky merupakan bakteri yang ditemukan pada saliva anjing yang memiliki potensi sebagai flora normal terhadap anjing tersebut, namun berpotensi menjadi patogen pada hewan lain.

2. Identifikasi molekuler berbasis gen 16S rRNA adalah metode yang dilakukan untuk mengetahui secara pasti spesies yang berasal dari saliva anjing ras Siberian husky dengan melalui tahapan ekstraksi DNA, PCR, elektroforesis dan sekuensing sehingga dapat diketahui urutan basa nukleotida bakteri saliva anjing ras Siberian husky.

### **E. Instrumen Penelitian**

#### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mikropipet, freezer - 72°C, gunting, *Laminar air Flow*, vortex, centrifuge, water bath, bucket, pinset, waterbath, *Hot plate and stirrer*, satu set alat elektroforesis, ball point, UV Transulaminator, *computer*, Rak, Labu Erlenmeyer, gelas ukur, tip, neraca analitik, spatula, stopwatch, freeze -20°C, gelas kimia, satu set alat elektroforesis, PCR Workstation/cabinet (Sci-Plus)/Biosafety cabinet, Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystem), Sub Gel GT Electroforesis system, Profuge GK-Centrifuge, Ice Maker (Mommert), Gel DocXR Model 785.

#### **2. Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain saliva anjing, Handscoon, masker, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tube, etanol 96%, gen 16S-rRNA, Presto™ Buccal Swab gDNA Extraction Kit (100 Preps), gSYNC™ DNA Extaction Kit (100 Preps), 200 µl PBS (*Phosphat buffer Seline*), Carrier RNA, S1 Buffer GSB (Gel solubilitation buffer), S2 Buffer GSB (Gel solubilitation buffer), Nucleid Acid, alkohol 5%, GD

column 2 ml Collection tube, Proteinase K, Buffer W1, *Wash buffer* (Geneaid), elution buffer, buffer AL-mix, Enzym KAPA Ready Mix,  $MgCl_2$ , DNA Template, Nuclease Free Water, kertas label, tissu, medic cool, primer forward dengan sequens U1 5'-CCAGCAGCCGCGGTAATA-3', primer reverse dengan sequens U2 5'ATCGG(C/T)TACCTTGTTACGACTTC-3', tabung PCR (Sorensen, Cat. No 3922), Parafilm (Sigma, Cat. No. 7543), Erlenmeyer (Schoott), Filter tips 0.5-10 $\mu$ l (MBP, Cat. No 3922), Filter tips 10-Disposable gloves, Vip Plus PCR Chiller, Tabung Eppendorf, Loading dye, agarose, Marker 1000bp, TBE Buffer 10x.

#### **F. Prosedur Kerja**

##### **1. Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang akan digunakan dicuci bersih lalu dibilas dengan air suling, kemudian alat-alat gelas disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 2 atm selama 2 jam. Alat-alat logam disterilkan dengan cara Autoclave suhu 121°C selama 15 menit.

##### **2. Preparasi Sampel**

Sampel yang digunakan adalah saliva anjing yang diambil dari mulut anjing rumah Ras Siberian Husky dengan metode Swab dan langsung.

##### **3. Identifikasi Isolat Bakteri pada Saliva Anjing**

Identifikasi bakteri pada saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) Ras Siberian Husky dideterminasi dengan menggunakan sekuen 16S-rRNA. Analisis Cluster pada sekuens tersebut dilakukan dengan program *BLAST* (*Basic Local*

*Alignment Tool*) dari *NCBI (National Center for Biotechnology Information)*.

Gen 16S-rRNA dianalisis secara lengkap di 1<sup>st</sup> Base Malaysia. Adapun langkah-langkah analisis gen 16S-rRNA dilakukan sebagai berikut:

a. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA pada dasarnya merupakan serangkaian proses pemisahan DNA dari komponen-komponen sel lainnya. Pada ekstraksi DNA ini metode yang digunakan adalah metode ekstraksi DNA Kit (Geneaid DNA Purification Kit). Langkah-langkah ekstraksi DNA adalah sebagai berikut:

1. Pot Sampel (A)

a. Preparasi Sampel (*sample preparation*)

Sampel saliva anjing dimasukkan ke dalam tabung mikrocentrifuge (semua) kemudian tambahkan 200µl (*Phospat Buffer Saline*), centrifuge sampel mengambil pelet.

b. *Cell lysis* (Melisiskan sel)

Masukkan Carrier RNA ke tabung mikrocentrifuge sebanyak 0.6 µl. Tambahkan 200 µl Buffer S<sub>2</sub> ke dalam tabung mikrocentrifuge sebanyak 500 µl, lalu vortex. Tambahkan proteinase K sebanyak 200 µl lalu vortex. Inkubasi selama 10 menit. Tambahkan 200 µl GSB buffer lalu vortex, inkubasi selama 10 menit.

c. *DNA Binding*

Tambahkan ethanol 200 µl lalu vortex selama 10 detik. Memindahkan semua campuran tersebut ke dalam GD Column (Spin column), sentrifugasi pada

13.000 Rpm selama 1 menit. Buang collection tube yang berada di bawah spin column dan mengganti dengan collection tube yang baru.

d. *Wash* (Pencucian)

Tambahkan 400µl buffer W1 lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan yang sama kemudian buang cairan yang ada pada collection tube. Tambahkan 600µl wash buffer (Geneid) sentifuge selama 1 menit, lalu buang cairan pada collection tube dan sentrifuge kembali selama 3 menit. Buang collection tube dan letakkan mikrocentrifuge steril pada bagian bawah spin column.

e. *Elution*

Selanjutnya tambahkan 100 µl Elution buffer kemudian sentrifuge dengan kecepatan yang sama selama 1 menit. Cairan yang mengandung DNA yang tertampung pada tabung mikrocentrifuge disimpan pada -4°C untuk digunakan sebagai template PCR.

2. Swab Steril (B)

a. Preparasi Sampel (*sample preparation*)

Swaab dimasukkan ke dalam tabung mikrocentrifuge kemudian tambahkan 500 µl S1 Buffer, proteinase K 20 µl lalu vortex, inkubasi selama 10 menit.

b. *Cell lysis* (Melisiskan sel)

Memasukkan swab ke dalam collection tube dan sisa cairan sampel (volume tidak ditentukan). Centrifuge pada 13.000 Rpm selama 2 menit. Mengambil hasil

saringan dan memindahkan ke collection tube baru dan buang swab. Tambahkan 500 µl S2 Buffer ke dalam tabung mikrocentrifuge sebanyak lalu vortex. Inkubasi selama 10 menit.

c. *DNA Binding*

Tambahkan ethanol 500 µl lalu vortex selama 10 detik. Memindahkan semua campuran tersebut ke dalam GD Column (Spin column) sebanyak 750 µl, sentrifugasi pada 13.000 Rpm selama 1 menit. Buang collection tube yang berada di bawah spin column dan mengganti dengan collection tube yang baru.

d. *Wash* (Pencucian)

Tambahkan 600 µl wash buffer lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan yang sama kemudian buang cairan yang ada pada collection tube, pindahkan ke collection tube baru.

e. *Elution*

Selanjutnya tambahkan 100 µl Elution buffer kemudian sentrifuge dengan kecepatan yang sama selama 1 menit. Cairan yang mengandung DNA yang tertampung pada tabung mikrocentrifuge disimpan pada -4°C untuk digunakan sebagai template PCR.

b. Amplifikasi PCR (*Polimerase Chain Reaction*).

PCR merupakan suatu proses sintesis enzimatis untuk melipatgandakan suatu sekuens nukleotida tertentu secara in vitro (di dalam tabung). Prosesnya meliputi 3 tahap, yaitu denaturasi dengan suhu 95 °C selama 30 detik, annealing dengan suhu 55 °C selama 30 detik dan ekstention dengan suhu 72 °C selama 1 menit. 46 Prosedur

ini dikerjakan pada sampel DNA yang telah diisolasi, ekstrak DNA dari sampel dan aquadest sebagai kontrol negatif. "PCR mix" dimasukkan ke dalam tabung PCR (Hiroaki, 2009).

Tabel 3.1. Komposisi Primer Mix

Reaksi	( $\mu$ l)
Enzym KAPA Ready Mix	25
MgCl	2
Forward primer	1
Reverse primer	1
DNA Template	5
Nuclease Free Water	16
Total premix	50

(Protokol pabrik (Qiagen))

Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (DNA thermal Cycler). Untuk amplifikasi PcR, tahap awal denaturasi pada suhu 95°C selama 15 menit, selanjutnya 94°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik, ekstensi 72°C selama 1 menit sebanyak 40 siklus dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72°C selama 1 menit sebanyak 40 siklus dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72°C selama 5 menit dan 12°C  $\pm$  30 menit untuk penyimpanan.

#### c. Pembuatan Gen Agarose 2%

Agarosa dibuat dengan melarutkan 2 gr agarose (BioRad) dalam 100 mL 10 Tris borate EDTA (*Ethylene Diamine TetraAcid*) (100 g Tris base, 27.5 g asam borat, 20 ml 0.5 M EDTA pH 8.0 dalam 1 liter air). Kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larut (bening). Selanjutnya ditambahkan 2  $\mu$ l ethidium bromida dan



dimasukkan dalam pencetak gel yang telah dipasang sisir. Tunggu gel agarosa sampai memadat (sekitar 30 menit).

d. Elektroforesis

Gel agarose dimasukkan ke dalam tank elektroforesis yang berisi larutan TBE 0.5x. masukkan DNA sampel yang telah dicampur dengan cairan “loading dye” ke dalam sumur dengan perbandingan 2 : 1, kemudian masukkan Marker 1000bp setelah keseluruhan sampel telah dimasukkan. Elektroda dihubungkan dengan power supply, kemudian dinyalakan selama 1 jam (60 menit). Setelah itu,, alat elektroforesis dimatikan kemudian gel dari alat tersebut diambil. Gel dipindahkan ke dalam UV transulaminator kemudian diamati hasilnya pada komputer.

e. Analisis Data Sekuensing

Analisis data sekuensing dilakukan dengan menggunakan program software DNA star. Untuk analisa *sequence alignment*, dilakukan dengan membandingkan sekuens yang diperoleh (*query*) dengan yang telah ada pada *Gene Bank* dengan *database searches* NCBI *internet site* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Ukuran fragmen hasil amplifikasi PCR ditentukan dengan cara dibandingkan antara posisi ukuran penanda DNA (Marker) dengan ukuran fragmen sampel. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya band pada ukuran 996 bps.

## Skema Kerja



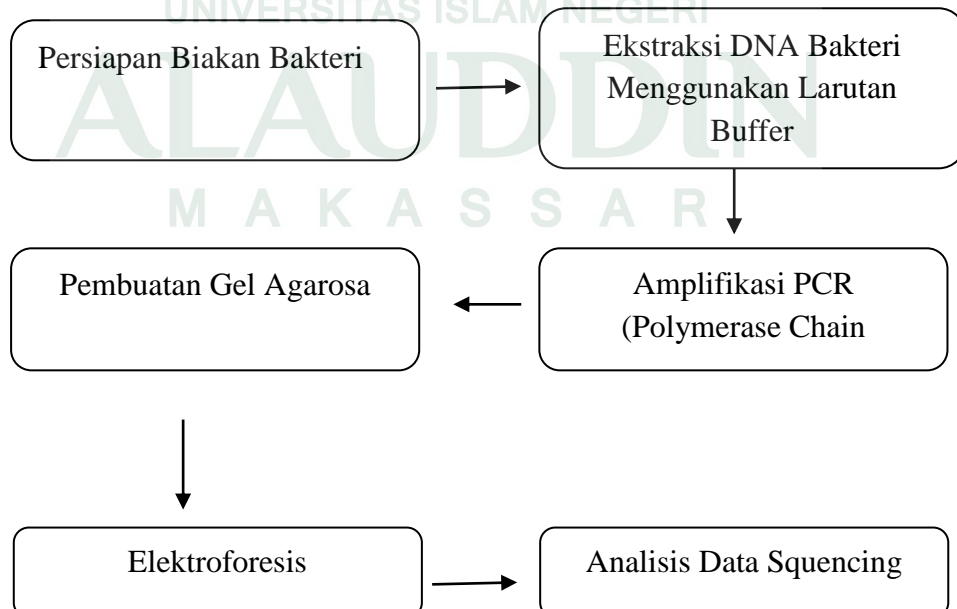
Siberian husky

### 1. Isolasi Bakteri saliva anjing (*Canis lupus familiaris*)

- Air liur anjing (*C. lupus familiaris*) ras Siberian Husky
- Ekstraksi
- disimpan di *refrigerator* pada suhu  $-26^{\circ}\text{C}$ .

Isolat siap untuk uji selanjutnya

### 1. Identifikasi Molekuler



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Adapun hasil dari penelitian ini yang berjudul Identifikasi Bakteri Saliva Anjing (*Canis lupus familiaris*) Ras Siberian Husky yaitu:

**Tabel 4.1** Hasil identifikasi molekuler anjing (*Canis lupus familiaris*) Ras Siberian Husky menggunakan BLAST dari NCBI

No	Kode Sampel	Jenis spesies	Strain	Kemiripan (%)	Query coverage (%)
1	NSA	<i>Undibacterium parvum</i>	-	91	95
		<i>Herbasprillum hutitiense</i>	-	91	96
		<i>Gallionella ferruginea</i>	-	91	96
		<i>Oxalobacterium</i>	Strain Hp9r	91	95
		<i>Undibacterium</i> sp	7B638 7B410 7A373 A1588 A136 A130	91	95
2	NSB	<i>Frederiksenia canicola</i>	Strain HPA21	96	99
		<i>Ursidibacter maritimus</i>	Strain Nanok Pb43106 Strain maliks Strain milaks	96	99
		<i>Ursidibacter maritimus</i>	Pb 43104x Pb43106		
		<i>Pasteurellaceae bacterium</i>	D2018_98 D227_99 D2941_98 D452-3_99 KM1266_04 D597-2_99 CCUG17204 KM555_08 CUCG22043	96	99

			KM1549_04 M2500 D227_99 CUCG17206		
		<i>Bibersitinea trehalosis</i>	-	96	99

1. NSA (Sampel Air Liur anjing peliharaan ras Siberian husky)

GGGGCACATCGGATATGGGCTAAGGGTGCCTAGGCGGTTTGTAAGTCAG  
ATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCCTTTGAAACTGGCAAGC  
TTGAGTGTTTTAGAGGGAGGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGT  
AGATATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCTTCCTGGGATAATAC  
TGACGCTCATGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG  
GTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCTACTAGGTGTTGGGGATAT

2. NSB (Sampel Swab Air Liur peliharaan ras Siberian husky)

GNTGACTGGGCGTAAGGGNACGCAGGCGGATTGTTAAGTCAGATGTGAA  
AGCCCCGGGCTTAACCTGGGAATTGCATTTCAAAGTGGCAATCTAGAGTA  
TTTAGGGAGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAT  
GTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCTTGGGAATATACTGACGC  
TCATGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC  
CACGCTGTAAACGATGTCGATTTGGGGATTGGGCTTTAAATTTGGTGCCC  
GAAGCTAACGTGATAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTA  
AAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGT  
TTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCATGGAA  
TATCGTAGAGATATGAGTGTGCCTCCGGGAAGTATGAGACAGGTGCT

## B. Pembahasan

Dalam proses identifikasi molekuler mikroorganisme memiliki 4 proses utama yaitu ekstraksi DNA, PCR, dan elektroforesis serta tahap paling penting yaitu sekuensing. Tahap ekstraksi DNA merupakan serangkaian proses yang bertujuan untuk memisahkan DNA dari komponen-komponen sel lainnya, Sehingga diperoleh

DNA murni. Isolasi/ekstraksi DNA diperoleh dengan cara merusak atau memecahkan dinding sel sehingga DNA akan keluar dari dalam sel.

Pada tahap ekstraksi terjadi pemisahan benang-benang DNA dengan komponen sel yang lain. Proses ini DNA yang mengacu pada pedoman instruksi manual oleh protocol Geneaid dengan menggunakan presto TM mini Gdna bacteria kit didalam prosedur manual ini ada beberapa proses penting yaitu preparasi sampel (*sample preparation*), sel pecah (*cell lysis*) pengikatan DNA (*DNA binding*), pencucian (*Wash*) dan elusi (*Elution*).

Kit presto TM mini Gdna bacteria kit menggunakan prinsip mini column atau filtrasi DNA. Pertama dinding sel dihancurkan, untuk bakteri gram positif menggunakan gram buffer yang telah ditambahkan lisozim sedangkan untuk bakteri gram negative menggunakan gram buffer dan proteinase K. pada tahap pemecahan sel menggunakan lisis buffer. DNA diendapkan dengan ethanol absolut, difilter dan dicuci dengan *washing buffer* (buffer W1 dan buffer wash). Kemudian DNA dilarutkan dalam *elution buffer*. Ekstraksi DNA dengan mini coulumn merupakan metode ekstraksi yang paling umum dilakukan karna hasil yang di dapatkan sangat baik dalam waktu yang tidak lama dan biaya murah.

Tahap selanjutnya Proses PCR yang bertujuan untuk melipat gandakan suatu pita DNA secara invitro. Dalam perkerjaannya terdapat reaksi berantai yaitu denaturasi, annealing dan elongasi. Proses PCR ini dilakukan sebanyak 40 siklus. Dalam mix PCR menggunakan primer universal

Elektroforesis DNA yang merupakan suatu Teknik pemisahan molekul seluler berdasarkan atas ukurannya, dengan menggunakan medan listrik yang dialirkan pada suatu medium yang mengandung suatu sampel yang akan dipisahkan. Hasil dari proses ekstraksi dan PCR dapat dilihat dengan cara elektroforesis yaitu dengan melihat ketebalan pita DNA sampel tersebut. Dari elektroforesis tersebut dapat dilihat Panjang basepair (Bp) persampel dengan menggunakan bantuan marker. Tahap elektroforesis dilakukan selama 60 menit dengan volt 100 dengan gel agarose dengan konsentrasi 2%. Adapun bahan yang digunakan dalam proses elektroforesis yaitu agarose, buffer, marker 100 bp, *loading dye* dan *Ethidium bromide*. Agarose sebagai reseptor titik dari senyawa-senyawa yang akan dipisahkan dan menyediakan jalur bagi migrasi komponen. *Buffer* berfungsi sebagai konduktor arus yaitu jembatan konduksi diantara dua elektroda, sehingga memungkinkan terjadinya aliran medan listrik dan menstabilkan pH. Marker DNA yaitu terdapat dalam gel elektroforesis berfungsi untuk mengetahui ukuran DNA hasil amplifikasi dan sebagai penanda posisi molekul DNA yang bermigrasi untuk menentukan perkiraan ukuran basanya. *Loadyng dye* berfungsi sebagai pemberat agar tidak keluar dari sumurnya. Etidium bromide sebagai pewarna DNA.

Analisis BLAST dilakukan dengan tujuan untuk membandingkan hasil yang diperoleh dengan hasil sekuen DNA dari seluruh dunia yang didepositkan pada database Gen Bank. Analisis hasil BLAST tersebut memberikan informasi mengenai bakteri apa yang mempunyai kesamaan dengan urutan DNA sampel sehingga dapat digunakan untuk identifikasi bakteri. Analisis BLAST dilakukan secara online pada

website *National Center for Biotechnology Information* (NCBI, 2016): (<http://ncbi.nlm.nih.gov>). ciri-ciri sekuen dari gene bank yang paling mirip dengan sekuen DNA yang diperoleh yaitu, nilai *Max Score* dan *Total Score* sama, *Query coverage* mendekati 100%, *E-Value* mendekati 0, dan *Identities* mendekati 100%. Dari keempat parameter tersebut, nilai *Query Coverage* yang paling penting karena menunjukkan persentase Database yang tertutupi oleh *Query*. Apabila nilai *E-Value* semakin mendekati nol, hasilnya akan lebih terpercaya dan bila nilainya 1, maka tidak boleh digunakan.

Nilai *query cover* pada sampel NSA dengan jumlah bakteri 3 spesies memiliki 95% dan 2 spesies bakteri 96% . Persentase tersebut menunjukkan keselarasan panjang sekuens sampel dengan database spesies pada *gene bank*. Semakin tinggi nilai persentase query covernya semakin tinggi pula nilai homologinya (Nugroho, 2014). Adapun nilai E-value (*expectation value*) masing-masing sampel g dan h yaitu 0.0. Nilai tersebut menunjukkan spesies yang ada pada database benar-benar homolog dengan sekuen sampel, karena semakin rendah nilai E-value maka semakin tinggi tingkat homologinya (Claverie dan Notredame, 2003). Terakhir, nilai *percentage of identity* masing-masing sampel g dan h adalah 99%. Tingginya nilai persentase tersebut mengindikasikan identiknya sekuen sampel dengan sekuen spesies pada database (Claverie dan Notredame, 2003).

Menurut wulandari, 2011. Jika urutan basa memiliki persamaan yang tinggi maka strain dapat dimasukkan dalam satu spesies yang sama. Hasil analisis BLASTn terhadap gen 16S rRNA yang mempunyai homologi urutan kurang dari 98%



menunjukkan bahwa spesies yang dibandingkan merupakan spesies berbeda, homologi antara 93-95% menunjukkan bahwa spesies yang dibandingkan berada pada genus yang berbeda dan homologi antara 89-93% menunjukkan spesies yang dibandingkan berada pada famili yang berbeda.

#### 1. *Undibacterium Parvum*

*Undibacterium parvum* merupakan bakteri gram negative, berbentuk basil/batang yang biasanya ditemukan pada air, bakteri ini termasuk tidak memiliki spora dan bakteri dengan nutrisi yang rendah dan berasal dari genus *Undibacterium* dan family *Oxalobacteriaceae* (Eder,2016) .

Bakteri *U. parvum* memiliki kedekatan filogenetik dengan *Indobacterium pigrum* biasanya terdapat pada babi hutan, yang membedakan antar keduanya yaitu jenis strain H DSM 19792T (5CCUG) (Eder,2016).

Bakteri ini digolongkan dalam genus *undibacterium* Genus dimunculkan sebagai motil dan peka terhadap standar konsentrasi garam fisiologis dan peka terhadap uji serologis dan aplikasi API (*Application programming interface*) atau semacam aplikasi biologi (Kim, 2014).

Keluarga bakteri *Oxalobacteraceae* termasuk dalam kelas *Betaproteobacteria* dan memiliki sebelas generasi (Garrity, 2005). Dalam family *Oxalobacteraceae* termasuk bakteri yang memiliki tingkat filogenitas yang beragam dan beberapa berasal dari isolasi mikroorganisme akuatik dan tanah di dalam kelas *Betaproteobacteria* (eder, 2011). Sebagian besar organisme dalam keluarga ini

membentuk koloni berpigmen kekuningan pada media yang kaya nutrisi seperti nutrient agar (Kampfer, 2007).

Adapun klasifikasi dari *Undibacterium parvum* yaitu:

Kingdom: Bacteria  
 Phylum: Proteobacter  
 Class: Betaproteobacteria  
 Order: Burkholderiales  
 Family: Oxalobacteraceae  
 Genus: undibacterium  
 Species: *Undibacterium parvum* (Bergey, 1994).

## 2. *Herbasprillum huttiense*

Bakteri yang ditemukan *Herbasprillum huttiense* dengan strain IAC/BECA-153. Pada penelitian Zousa (2018), menemukan bakteri *H.huttiense* yang diidentifikasi dari air sumur dengan strain 7-2T (IAM 15032). Bakteri ini dapat tumbuh pada media padat yang terfiksasi dalam 1% glutaraldehida dengan pH 7 (Ding, 2004).

Adapun klasifikasi dari *Herbasprillum huttiense* yaitu:

Kingdom: Bacteriar  
 Phylum: Proteobacter  
 Class: Betaproteobacteria  
 Order: Bulkholderiales  
 Family: Oxalobacteraceae

Genus: Herbasprillum (Bergey, 1994),

### 3. *Gallionella fereugenea*

Bakteri ini berbentuk seperti kacang dan pertumbuhannya dan reproduksinya secara elongasi (Cholodny, 1924), bakteri jenis ini merupakan bakteri penimbun oksida besi, kemolithotropik termasuk juga sebagai bakteri bio korosi (Pringheim, 1949). Dan banyak didapat pada perairan dan merupakan bakteri outotrof obligat. Sumber karbon bakteri ini berasal dari CO<sub>2</sub> (Brock & Schlegel, 1989). Bakteri ini banyak diisolasi dari perairan yang tercemar dan dapat diremajakan dalam keadaan anaerob dengan media MSA.

Adapun klasifikasi dari *Gallionella fereugenea* yaitu:

Kingdom: Bacteria

Phylum: Proteobacter

Class: Betaproteobacteria

Order: Gallionellales

Family: Gallionellaceae

Genus: Gallionella (Bergey, 1994)

### 4. *Frederiksenia canicola*

Bakteri ini merupakan bakteri gram negative yang terdapat pada oral anjing sebagaimana dalam penelitian Korczak (2014) mengisolasi bakteri *Frederiksenia canicola* pada Anjing dan luka gigitan anjing. Bakteri ini berasal dari famili *Pasteurellaceae* dan memiliki 16 tipe bakteri yang memiliki kekerabatan termasuk

bakteri *Ursidibacter maritimus* yang membentuk garis monofiletik diantara beberapa jenis bakteri yang didapatkan pada penelitian tersebut.

Adapun klasifikasi dari *Frediksenia canicola* yaitu:

Kingdom: Bacteria  
 Phylum: Proteobacter  
 Class: Gammaproteobacteria  
 Order: Pasteurellales  
 Family: Pasteurellaceae  
 Genus: Frederiksenia (Bergey, 1994)

#### 5. *Ursidibacter maritimus*

Bakteri ini merupakan bakteri gram negative yang memiliki kekerabatan dekat dengan pasteurellaceae yang merupakan komensial obligat atau parasite yang menyerang lapisan mukosa dan sistem pernafasan. Namun pada penelitian Mie (2015) *Ursidibacter maritimus* dapat ditemukan dari hewan berdarah panas seperti hewan peliharaan dan ternak dengan menggunakan amplifikasi 16S rRNA.

Adapun klasifikasi dari *Ursidibacter maritimus* yaitu:

Kingdom: Bacteria  
 Phylum: Proteobacter  
 Class: Gammaproteobacteria  
 Order: Pasteurellales  
 Family: Pasteurellaceae  
 Genus: Ursidibacter (Bergey, 1994)

## 6. *Pasteurellaceae bacteria*

*Pasteurellaceae bacteria* merupakan salah satu bakteri penginfeksi primer pada pernafasan, bakteri pathogen ini terdapat pada hewan peliharaan atau satwa liar, dan beberapa spesies *Pasteurellaceae* ini penyebab penyakit parah dengan kerugian ekonomi yang tinggi dalam peternakan komersial (Dousse *et al*, 2008).

*Pasteurellaceae* merupakan bakteri yang memiliki kekerabatan yang sangat luas dari bakteri gram negative, bakteri ini merupakan bakteri utama penyemaba terjadinya *Haemophilus influenzae* yang terjadi pada manusia atau hewan lain (Kuhnert, 2008).

*Pasteurellaceae bacteria* memiliki 24 jenis spesies yang hamper sama. Mayoritas bakteri ini telah diisolasi dari kondisi penyakit pada hewan khususnya hewan ternak. Bakteri ini adalah parasite obligat, yang menklonisasi pada permukaan mukosasaluran pernafasan bagian atas, Oropharynx, saluran reproduksi dan juga bagian dari saluran usus (Kuhnert, 2008).

Adapun klasifikasi dari *Pasteurellaceae bacteria* yaitu:

Kingdom:	Bacteria
Phylum:	Proteobacteria
Class:	Gammaproteobacteria
Order:	Pasteurellales
Family:	Pasteurellaceae
Genus:	Pasteurellaceae
Species:	<i>Pasteurellaceae bacteria</i> (Bergey, 1994)

### 7. *Biberstinea trehalosis*

Bakteri ini sbelumnya merupakan bakteri yang telah direklasifikasi dengan bakteri (pasteurellaceae) trehalosis. Bakteri ini salah satu pathogen penting pada domba atau binatang ternak lainnya, disamping itu juga dapat menyebabkan pneumonia (blackall, 2007).

Bakteri ini memiliki host (sapi, caprine, rusa, domba). Bakteri ini diisolasi dari saluran pernafasan hewan ternak namun jika pada sapi belum diketahui secara pasti ia merupakan pathogen primer. *Biberstinea trehalosis* memiliki aktifitas hemolitik dan dapat memproduksi leotoksin (Ward, 1999).

Adapun klasifikasi dari *Biberstinea trehalosis* yaitu:

Kingdom:	Bacteria
Phylum:	Proteobacter
Class:	Gammaproteobacteria
Order:	Pasteurellales
Family:	Pasteurellaceae
Genus:	Biberstinea (Bergey, 1994)

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Adapun kesimpulan pada penelitian ini berdasarkan tujuan yaitu mengetahui hasil identifikasi molekuler jenis bakteri yang terdapat pada anjing ras Siberian husky dengan menggunakan dua metode swab dan air liur murni, pada metode pot yaitu bakteri dengan genus *undibacterium* berjenis *Undibacterium vigrum*, *Herbasprillum huttiense*, *Gallionella frugenia* beberapa bakteri ini merupakan bakteri yang terdapat di hewan ternak maupun hewan liar lainnya. Adapun yang terdapat pada metode swab anjing ras Siberian husky yaitu *Pasteurellaceae bacteria* yang notabene banyak terdapat pada beberapa hewan liar. Dan *Frederiksenia canicola*, *ursidiacter maritimus*, *Bibersinea treholosis*. Beberapa bakteri ini merupakan bakteri gram negative dan memiliki tingkat patogen terhadap manusia dan juga banyak terdapat di anjing maupun di hewan liar lainnya.

#### **B. Saran**

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memperoleh hasil yang lebih lanjut dan terperinci mengenai identifikasi secara molekuler dan dan diperlukan Teknik sampling yang sesuai dan ketelitian dapat memberikan data yang representative untuk kesempurnaan penelitian ini.



## KEPUSTAKAAN

- Ahira D, dkk. "Anjing Pemburu (*Canis Familiaris*) Di Kecamatan Lareh Sago Halaban Provinsi Sumatera Barat". *Jurnal Medika Veterinaria*. 7. No.1. (Februari, 2013): 42-45.
- Arham, Washilul. Identifikasi Bakteri Simbion Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal Asal Bromo Jawa Timur Berdasarkan Sekuen DNA Pengkode 16S rRNA. *Skripsi*. Jember: Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember, 2015.
- Badan Litbang dan Diklat Kementerian Agama RI. *Hewan dalam Perspektif Al-Qur'an dan Sains (Tafsir Ilmi)*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf AL-Qur'an, 2012.
- Berg MJ, Tymoczko JL, and Stryer L. *Biochemistry*. Six Edition. San Fransisco: WH Freeman, 2007.
- Blackall P J, *et all*. Reclassification of [*Pasteurella*] trehalosi as *Bibersteinia trehalosi* gen. nov., comb. nov. "*International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*". No. 57 (2007): 666-674.
- Brock, T. D. & Madigan, M. T. *Biology Of Microorganism*. New Jersey: Prentice-Hall, 1988.
- Campbell NA, Reece JB, and Mitchell LG. *Biologi*. Edisi ke-5. Penerjemah; Lestari R. Editor; Safitri. Jakarta: Erlangga, 2002. Terjemahan dari *Biology 6<sup>th</sup> Edition*.
- Case RJ, Boucher Y, Dahllöf I, Holmström C, Doolittle WF, and Kjelleberg S. "Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies". *Applied and Environmental Microbiology* 73 no.1 (Januari 2007): 278-288.
- Claverie JM. Notredame C. *Bioinformatics for Dummies*. Indianapolis (USA): Wiley Publishing, 2003.
- Cholodny, N. Zur Morphologie der Eisenbakterien, Gallionella and Spirophyllum. "*Ber. deut. botan. Ges.*," (1924): 42, 35-44.
- Ding L, Yokota A. "Proposals of *Curvibacter gracilis* gen. nov., sp. nov. and *Herbaspirillum putei* sp. nov. for bacterial strains isolated from well water and reclassification of [*Pseudomonas*] huttiensis, [*Pseudomonas*] lanceolata, [*Aquaspirillum*] delicatum and [*Aquaspirillum*] autotrophicum as

- Herbaspirillum huttiense comb. nov., Curvibacter lanceolatus comb. nov., Curvibacter delicatus comb. nov. and Herbaspirillum autotrophicum comb. Nov". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54 (2004): 2223–2230.
- Dousse Florence *et all*. Routine phenotypic identification of bacterial species of the family Pasteurellaceae isolated from animals. " *J Vet Diagn Inves*". Vol 20. (2008): 716-724.
- Drancourt, M., Bollet, C., Carlouz, A., Martelin, R., Gayral, J.P., & Raoult, D. 16S ribosomal DNA Sequence Analysis a Large Collection Of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates. *J Clin Microbiol*, 38, (2000): 3623-30.
- Eder Wolfgang *et all*, Description of Undibacterium oligocarboniphilum sp. nov., isolated from purified water, and Undibacterium pigrum strain CCUG 49012 as the type strain of Undibacterium parvum sp. nov., and emended descriptions of the genus Undibacterium and the species Undibacterium pigrum. "*International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*". Vol 61. (2016): 384–391.
- Eder, W., Wanner *et all*. Description of Undibacterium oligocarboniphilum sp. nov., isolated from purified water, and Undibacterium pigrum strain CCUG 49012 as the type strain of Undibacterium parvum sp. nov., and emended descriptions of the genus Undibacterium and the species Undibacterium pigrum. "*Int J Syst Evol Microbiol*" Vol 61. (2011): 384-391.
- Fedaku, M. Shaddock, J.H, Baer G.M. "Intermittent Excretion of Rabies Virus in The Saliva Of Dog Two and Six Months After it Had Recovered From Experimental Rabies". *Am J Med Hyg*. Vol 30 No. 5 (1981): p.113-115.
- Gaffar, Sharbani. *Buku Ajar Bioteknologi Molekul*. Jurusan Kimia FMIPA: Universitas Padjajaran, 2007.
- Garrity, G. M. Family II.Oxalobacteraceae fam. nov. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. "*Springer*". Vol 2. (2001):623.
- Gibson M Jenifer, Scavelli S Stephanie, Udell J Chesster, Udell A R Manique. "Domestic Dogs (*Canis lupus familiaris*) are Sensitiveto To The "Human" Qualities Of Vocal Commands". No. 3 (Mei, 2014): 281-295.
- Hanafi muchlis M dkk. Lajnah penafsiran Mushaf al-Aur'an Kementerian Agama RI. 2003.

- Hakim Jeffry. "Tanah Dan Sabun Tanah Sebagai Bahan Antimikroba Terhadap Air Liur Anjing". *Skripsi*. Bogor : Institut Pertanian Bogor, 2008.
- Han, X. Y., Pham, A.S., Tarrand, J.J., Sood, P. K., & Luthra, R. Rapid And Accurate Identification of Mycobacteria by Sequencing hypervariable Regions of The 16S ribosomal RNA Gene. *Am J Clin Pathol*, 118 (2002): 796-801.
- Jang ji L, *et all*. Use of PCR Whith Universal Primer and Rectriction Endonuclease Degistion For Detection and Identification of Common Bacterial Pathogens in Cerebropinal Fluid. "*Journal ao Clinical Microbiology*". 38. No. 6 (june, 2000): 2072-2080.
- Khallaf, Abdul Wahhab, Ilmu Usul al-Fiqh, Bayrut: Dar al-Fikr, t.th.
- Kikuchi, K. Karasawa, T. Piao, C.Hidai, H.Yamura, H.totsuka, H. Morikawa, T. Takayama, M. "Molecular Confirmationof Transmission Route of *Staphylococcus intermeius*in mastoid Cavity Invection From Dog Saliva". *J infec Chemother*. Vol 10 No.1 (2004):p. 46-48.
- Ka'mpfer, P *et all*. Undibacterium pigrum gen. nov., sp. nov., isolated from drinking water. "*Int J Syst Evol Microbiol*". Vol 57. (2007): 1510–1515
- Kurzcak Bozena M, *et all*. Frederiksenia canicola gen. nov., sp. nov. isolated from dogs and human dog-bite wounds. "*Antonio Van Leeuwenhoek*" 105 (2014): 731-741.
- Kim Soo jin, *et all*. Undibacterium jejuense sp. nov. and Undibacterium sehonense sp. nov., isolated from soil and freshwater, respectively. "*International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*" Vol 64. (2014): 236–241.
- Madigan M T, Martinko J M, Parker J. 1997. Brock, the Biology of Microorganisms 8<sup>th</sup> Edition. Prentice Hall. Upper Saddle River. New Jersey.
- Mie Johanne H, *et all*. Ursidibacter maritimus gen. nov., sp. nov. and Ursidibacter arcticus sp. nov., two new members of the family Pasteurellaceae isolated from the oral cavity of bears. "*International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*" Vol.65 (2015): 3683–3689.
- Muhammad Abullah. *Tafsir Ibnu Katsir (Jilid 2 Vol 3)*. Jakarta: Pustaka imam Syafi'i. 2010.
- Muhammad Abullah. *Tafsir Ibnu Katsir (Jilid 4 Vol 5)*. Jakarta: Pustaka imam Syafi'i. 2010.

- Muladno. *Seputar Teknologi rekayasa Genetika*. Bogor: Pustaka Wirausaha Muda, 2002.
- Murray RK, Granner DK, dan Rodwell VW. *Biokimia*. Jakarta: EGC, 2003.
- Nugraha F. Roslim DI. Ardilla YP. Herman “Analisis Sebagian Sekuen Gen Ferritin2 pada Padi (*Oryza sativa* L.) Indragiri Hilir, Riau”. *Biosaintifika Journal of Biology and Biology Education* 6 No. 2 (2014): 94-103.
- Krieg. Noel , *et all. Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology. Second Edition*. New York Dordrecht Heidelberg London: Springer, 1989.
- Rahman, Jalaluddin, *Islam dalam Perspektif Pemikiran Kontemporer*, Cet. I, Ujung Pandang: PT Umitoha Ukhuwah Grafika, 1997.
- Residiwati gretania. “Jumlah Total Bakteri CPS Pada Swab Tangan Pemegang Anjin di RSHP FKH UNAIR Sebelum dan Sesudah Dilakukan Pencucian Menurut Kadijah Islam dan Pembersihan Menggunakan Sabun”. *Tesis*. Surabaya: Universitas Erlangga, 2015.
- Rosadi Bayu, Taksonomi Vertebrata. Tangerang Selatan: Penerbit Universitas Terbuka, 2014.
- Sjuhada, A. *Cairan Rongga Mulut Kumpulan Makalah Seminar Nasional*. Surabaya, Ikatan Ahli Ilmu Faal Indonesia, 2006.
- Singleton P. *Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine*. 3<sup>rd</sup> Edition. New York: John Wiley and Sons, 1995.
- Smith Bradley, Flavel Matthew, Simpon Bradley. “Quantification Of Salivary Cortisol From Captive Dingoes (*Canis dingo*) In Relation To Age, Sex, And Breeding Season: Implications For Captive Management”. *Australian Mammology*. No. 10. (September, 2015): 2-9.
- Stansfield, Wiliam, Raul Cand dan Jaime Colome. *Biologi Molekuler dan Sel*. Jakarta: Erlangga, 2006.
- Sunaryo Eunike Y. Pusat Pemeliharaan, perawatan, dan pelatihan anjing peliharaan. Depok: universitas Atma jaya Yogyakarta, 2013.
- Utami S. Sumiarto B. *Identifikasi Virus Rabies Pada Anjing Liar Di Kota Makassar*. Balai Besar Karantina Pertanian (BBPK) Makassar, Bagian Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 2010.
- Peter C Goody. *Dog Anatomy*. J.A Allen London, 1997.
- Pangastuti, Artini. 2006. Review Definisi Spesies Prokaryota Berdasarkan UrutanBasa Gen Penyandi 16S rRNA dan Gen Penyandi Protein. *Jurnal ISSN: 1412-033X*, 292-296.

Yuwono, T. teori dan Aplikasi: PCR. Yogyakarta: Penerbit Andi, 2006.

Ward A.C., Diyer N. W. and fendwick B. W., Pasteurellaceae isolated from tonsillar samples of commercially. "*reared American Bison (Bison Bison)*". Vol 63: 161-165.

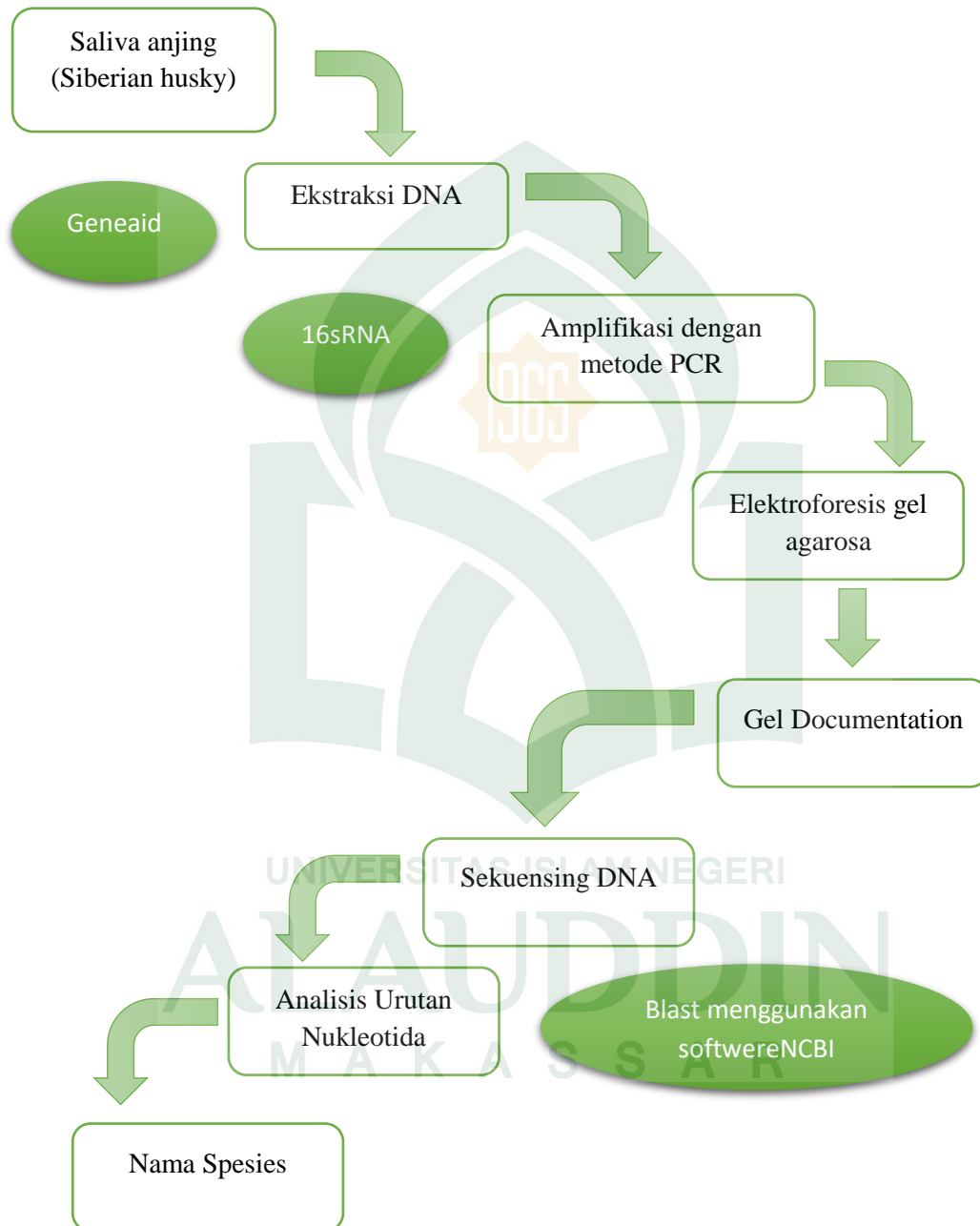
Weising K, Nybom H, Wolff K, and Kahl G. *DNA Fingerprinting in Plants; Principles, Methods, and Applications*. 2<sup>nd</sup> Edition, Boca Raton (US): CRC Press, 2005.

Wulandari, Rita. Analisis Gen 16S rRNA Pada Bakteri Penghasil Enzim Fitase. Tidak diterbitkan: *Tesis*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret, 2015.



## LAMPIRAN 1

### Identifikasi Molekuler



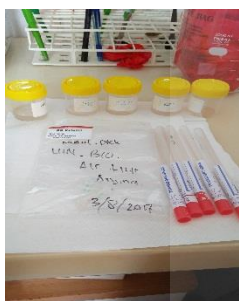


## LAMPIRAN 2

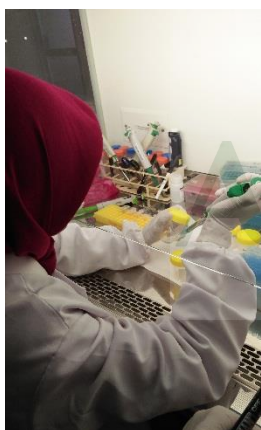
Gambar : proses pengerjaan



Pengambilan sampel



sampel



Ekstraksi





Mix PCR



Running PCR



Elektroforesis

UNIVERSITAS NEGERI  
ALAUDDIN  
MAKASSAR



Lane #	SampleName	SamType
1	NPa	Unpurified PCR Product
2	Nca	Unpurified PCR Product
3	Nba	Unpurified PCR Product
4	Nsa	Unpurified PCR Product
5	Noa	Unpurified PCR Product
6	Nga	Unpurified PCR Product
7	NCb	Unpurified PCR Product
8	NSb	Unpurified PCR Product
9	Nob	Unpurified PCR Product
10	NPb	Unpurified PCR Product
11	NGb	Unpurified PCR Product
12	NBb	Unpurified PCR Product

#### Lampiran 4

Gambar Hasil BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/))

Sekuensing Saliva Langsung



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
**ALAUDDIN**  
M A K A S S A R

NCBI Blast:Nucleotide Sequence (290 letters) - Google Chrome

← → ↻ 🏠 Aman | <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<a href="#">Uncultured bacterium clone 21.14.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	385	385	96%	5e-103	91%	<a href="#">KY830707.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone 21.13.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	385	385	96%	5e-103	91%	<a href="#">KY830709.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone 21.8.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	385	385	93%	5e-103	92%	<a href="#">KY830704.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone 21.4.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	385	385	96%	5e-103	91%	<a href="#">KY830702.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone 22.12.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	385	385	93%	5e-103	92%	<a href="#">KY830880.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone 22.8.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	385	385	96%	5e-103	91%	<a href="#">KY830879.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone juv818.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	385	385	96%	5e-103	91%	<a href="#">JN890488.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium gene for 16S rRNA, partial sequence, clone: hfm8027</a>	385	385	96%	5e-103	91%	<a href="#">AB000403.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone WC2.16.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	385	385	96%	5e-103	91%	<a href="#">GQ263909.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone JH-WHS198.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	385	385	96%	5e-103	91%	<a href="#">EF492937.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium partial 16S rRNA gene, clone AM 2.5m.2.90</a>	381	381	95%	6e-102	91%	<a href="#">HE816388.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone 22.4.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">KY830711.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone 50.5.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	379	379	93%	2e-101	92%	<a href="#">KY830884.1</a>
<a href="#">Uncultured beta proteobacterium gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone: ED442C-CL54</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">LC017423.1</a>
<a href="#">Uncultured Methylophilus sp. isolate DGGE gel band U6-W118.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">KC815493.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone PMB16s-71.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">JX847786.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone PMB16s-55b.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">JX847786.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone PMA16S-53.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">JX847738.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone PMA16S-60.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">JX847741.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone PMA16S-44.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">JX847728.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone PMA16S-38.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">JX847722.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone PMA16S-34.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">JX847720.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone PMA16S-11.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">JX847720.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone MFC-B171.16S ribosomal RNA, partial sequence</a>	379	379	96%	2e-101	91%	<a href="#">JX847720.1</a>

Questions/comments

NCBI Blast:Nucleotide Sequence (290 letters) - Google Chrome

← → ↻ 🏠 Aman | <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<a href="#">Uncultured organism clone 7854.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">GX477898.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium strain H10.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">KP196827.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone IAN42.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">KF428090.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium sp. TB-038.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">KF441893.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium sp. TB-410.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">KF441893.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium sp. TA-373.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">KF441843.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium sp. A1-588.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">KF441574.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium sp. A1-36.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">KF441566.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium sp. A1-30.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">KF441564.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone PMA16S-51.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	96%	3e-100	91%	<a href="#">JX847734.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone S2.094.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">JX406285.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium partial 16S rRNA gene, clone AM 2.5m.2.92</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">HE816388.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone JW75.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">JN888780.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone JW57.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">JN888773.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone MB99.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">JN825269.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone MB24.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">JN825268.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium sp. HME6512.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">HM149217.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone HZNB1-B6.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	96%	3e-100	91%	<a href="#">EU591842.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, isolate DGGE band HY7</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">AB263822.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium isolate SSCP band ER1-D.5.3.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	375	375	95%	3e-100	91%	<a href="#">DQ077808.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone Bact. IS. OTU1350.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	374	374	96%	1e-99	91%	<a href="#">KY943545.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone S4034.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	374	374	96%	1e-99	91%	<a href="#">GX504957.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone S4033.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	374	374	96%	1e-99	91%	<a href="#">GX504956.1</a>
<a href="#">Uncultured bacterium clone mp-4.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	374	374	96%	1e-99	91%	<a href="#">KF989338.1</a>
<a href="#">Uncultured Gallionella sp. clone DJD-A.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	374	374	96%	1e-99	91%	<a href="#">JX872713.1</a>
<a href="#">Uncultured Gallionella sp. clone BJS-A.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	374	374	96%	1e-99	91%	<a href="#">JX872713.1</a>

Questions/comments

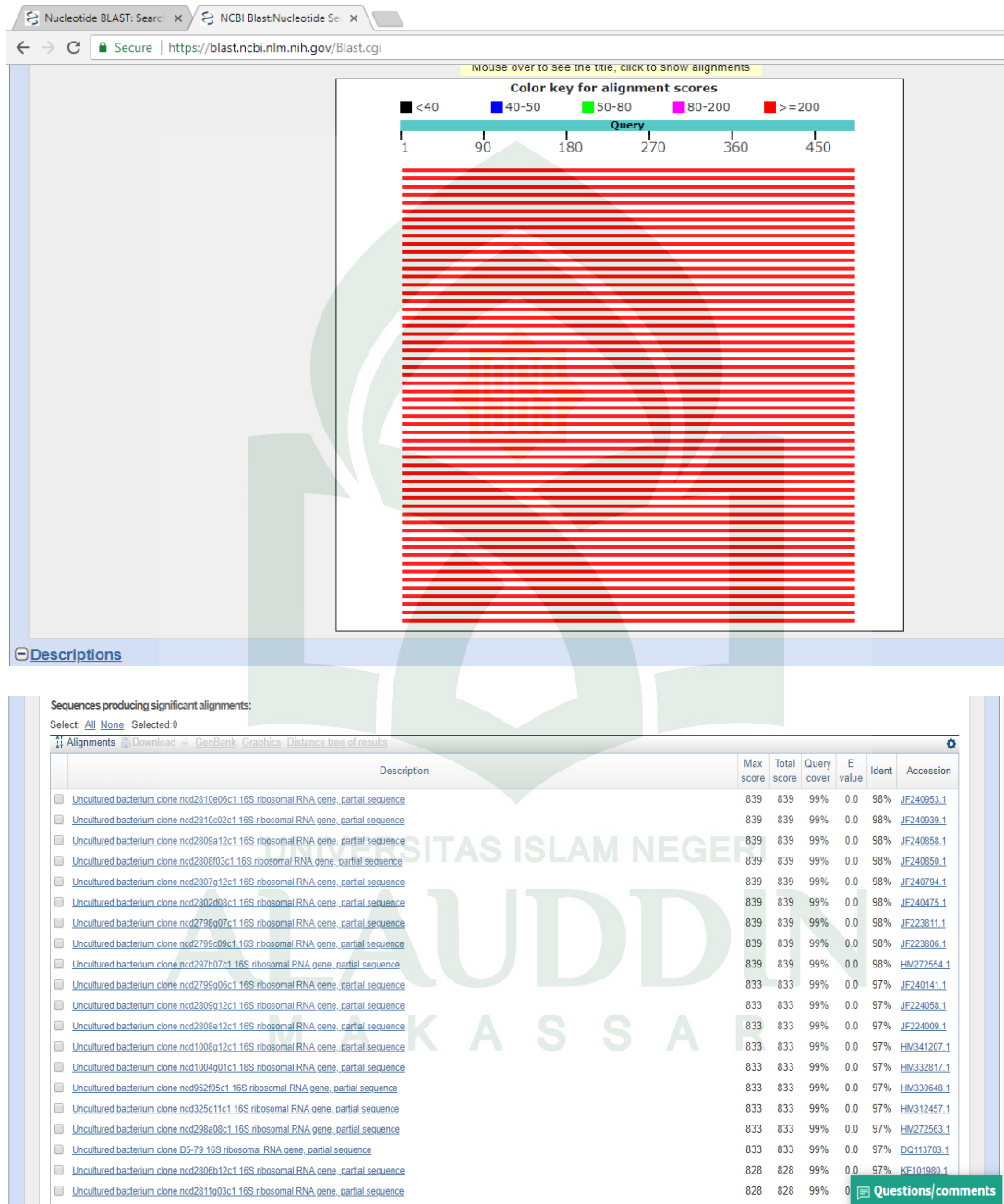
NCBI Blast:Nucleotide Sequence (290 letters) - Google Chrome

← → ↻ 🏠 Aman | <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> 🔍 ☆ ⋮

<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone W01-2402 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	374	374	90%	1e-99	91%	<a href="#">F61773829.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone: K28G2-9	374	374	90%	1e-99	91%	<a href="#">AB504689.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone: K28G1-24	374	374	90%	1e-99	91%	<a href="#">AB504598.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone MCCrE04 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	374	374	90%	1e-99	91%	<a href="#">FJ804626.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured Gallionella sp. partial 16S rRNA gene, isolate ALISMB53	374	374	90%	1e-99	91%	<a href="#">FM877999.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone LaP15L68 16S ribosomal RNA, partial sequence	374	374	90%	1e-99	91%	<a href="#">EF987832.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone mv13.3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	374	374	90%	1e-99	91%	<a href="#">AY424824.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Gallionella ferruginea 16S ribosomal RNA (16S rRNA) gene sequence	374	374	90%	1e-99	91%	<a href="#">L07397.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone 11170230B20-30-45_C01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	372	372	90%	4e-99	91%	<a href="#">KJ014327.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Herbaspirillum huttiense subsp. putei strain IAC/BECA-153 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	372	372	90%	4e-99	91%	<a href="#">JX155404.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured Gallionellaceae bacterium clone KWW_C03 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	372	372	90%	4e-99	91%	<a href="#">GU572368.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium gene for 16S rRNA, partial sequence, clone: hfmB007	372	372	90%	4e-99	91%	<a href="#">AB800390.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone 0702007H19DMCFD10934 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	372	372	93%	4e-99	91%	<a href="#">GU369480.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium partial 16S rRNA gene, clone Roi_L1-H11-T7	372	372	90%	4e-99	91%	<a href="#">FN296945.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured beta proteobacterium DGGE gel band FD 12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	372	372	90%	4e-99	90%	<a href="#">DQ385017.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone WMB-F06 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	370	370	95%	1e-98	91%	<a href="#">KM870393.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Oxalobacteraceae bacterium HP6R 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	370	370	95%	1e-98	91%	<a href="#">KM187582.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone Espejo_1_17_12_Pumice_239913 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	370	370	95%	1e-98	91%	<a href="#">KM179884.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone Espejo_1_17_12_Pumice_213767 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	370	370	95%	1e-98	91%	<a href="#">KM175805.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone Espejo_1_17_12_Pumice_174123 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	370	370	95%	1e-98	91%	<a href="#">KM174552.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone Espejo_1_17_12_Pumice_172425 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	370	370	95%	1e-98	91%	<a href="#">KM174500.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone Espejo_1_17_12_Pumice_167189 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	370	370	95%	1e-98	91%	<a href="#">KM174093.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone Espejo_1_17_12_Pumice_162857 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	370	370	95%	1e-98	91%	<a href="#">KM173967.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone Espejo_1_17_12_Pumice_149247 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	370	370	95%	1e-98	91%	<a href="#">KM173875.1</a>
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium isolate DGGE gel band B11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	370	370	90%	1e-98	90%	<a href="#">HM785440.1</a>

🗨️ Questions/comments

## Metode Swab



Nucleotide BLAST: Search X NCBJ Blast:Nucleotide Sequence (491 letters)

Secure | https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uncultured bacterium clone nbw1027a05c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	828	828	99%	0.0	97%	GQ033121.1
Uncultured bacterium clone nbw82901c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	828	828	99%	0.0	97%	GQ009063.1
Uncultured bacterium clone l8-33 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	828	828	99%	0.0	97%	DQ113762.1
Uncultured bacterium clone nbw623d11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	KF066558.1
Pasteurellaceae bacterium KM1721_06 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	JQ356612.1
Frederiksenia caricola strain HP241 16S ribosomal RNA, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	NR_134037.1
Uncultured bacterium clone ncd2809f09c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	JF240886.1
Uncultured bacterium clone ncd2808h02c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	JF240843.1
Uncultured bacterium clone ncd2808d01c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	JF240817.1
Uncultured bacterium clone ncd2797a07c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	JF240217.1
Uncultured bacterium clone ncd1778h02c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	JF154318.1
Uncultured bacterium clone ncd1658d08c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	JF140055.1
Uncultured bacterium clone ncd1075c02c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	HM336349.1
Uncultured bacterium clone ncd1003a02c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	HM332747.1
Uncultured bacterium clone ncd949a02c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	HM330391.1
Uncultured bacterium clone ncd552d03c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	HM278233.1
Uncultured bacterium clone ncd54f04c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	HM274379.1
Uncultured bacterium clone ncd293a11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	HM272268.1
Uncultured bacterium clone nbw1028f04c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	822	822	99%	0.0	97%	GQ033261.1
Uncultured bacterium clone nbw1028f10c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	819	819	99%	0.0	97%	GQ031944.1
Pasteurellaceae bacterium feline oral taxon 357 strain 7161 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	KM461963.1
Pasteurellaceae bacterium D2018_98 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JQ356602.1
Pasteurellaceae bacterium CCUG 17204 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JQ356599.1
Pasteurellaceae bacterium canine oral taxon 271 clone ZO044 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JN713434.1
Uncultured bacterium clone ncd2807f04c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF240787.1
Uncultured bacterium clone ncd2805d10c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF240646.1
Uncultured bacterium clone ncd2805d09c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF240643.1
Uncultured bacterium clone ncd17438b1c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF151963.1
Uncultured bacterium clone ncd1438b11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF124516.1
Uncultured bacterium clone ncd1324f11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF104256.1
Uncultured bacterium clone ncd1004e01c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM335460.1
Uncultured bacterium clone ncd957g12c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM330830.1
Uncultured bacterium clone ncd490c05c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM315989.1
Uncultured bacterium clone ncd524g11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM276442.1
Uncultured bacterium clone ncd298a10c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM272626.1
Uncultured bacterium clone ncd297a05c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM272503.1
Uncultured bacterium clone nbw1028e10c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	GQ033255.1
Pasteurellaceae bacterium Orientalotemba1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	813	813	99%	0.0	97%	KJ632970.1
Uncultured bacterium clone ncd545d01c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	813	813	99%	0.0	97%	HM274198.1
Uncultured bacterium clone ncd1074c03c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	811	811	99%	0.0	97%	HM336334.1
Uncultured bacterium clone ncd299f09c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	811	811	99%	0.0	97%	HM272674.1
Ribersteinia trehalosi USDA-ARS-USMARC-189 complete genome	808	4848	99%	0.0	97%	CP006955.1
Ribersteinia trehalosi USDA-ARS-USMARC-189 complete genome	808	4848	99%	0.0	97%	CP006954.1
Ribersteinia trehalosi USDA-ARS-USMARC-192 complete genome	808	4848	99%	0.0	97%	CP003745.1
Pasteurella trehalosi strain C1008-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	808	808	99%	0.0	97%	
Ursidibacter marinus strain Pb43106 16S ribosomal RNA, partial sequence	806	806	99%	0.0	97%	

Questions/comments



Nucleotide BLAST: Search: X NCBIBlast:Nucleotide Sequence (491 letters)

Secure | https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Pasteurellaceae bacterium feline oral taxon 357 strain 7161 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	KM461963.1
Pasteurellaceae bacterium D2018_98 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JQ356602.1
Pasteurellaceae bacterium CCUG 17204 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JQ356599.1
Pasteurellaceae bacterium canine oral taxon 271 clone Z0044 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JN713434.1
Uncultured bacterium clone ncd280704c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF240787.1
Uncultured bacterium clone ncd2805d10c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF240646.1
Uncultured bacterium clone ncd2805d05c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF240643.1
Uncultured bacterium clone ncd1743f01c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF151963.1
Uncultured bacterium clone ncd1438b11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF124516.1
Uncultured bacterium clone ncd1324f11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	JF104256.1
Uncultured bacterium clone ncd1004e01c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM335460.1
Uncultured bacterium clone ncd957g12c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM330830.1
Uncultured bacterium clone ncd490c05c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM315989.1
Uncultured bacterium clone ncd524g11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM276442.1
Uncultured bacterium clone ncd298e10c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM272626.1
Uncultured bacterium clone ncd297a05c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	HM272503.1
Uncultured bacterium clone nbw1028e10c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	817	817	99%	0.0	97%	GQ033255.1
Pasteurellaceae bacterium Orientalottemb1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	813	813	99%	0.0	97%	KJ632970.1
Uncultured bacterium clone ncd545d01c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	813	813	99%	0.0	97%	HM274198.1
Uncultured bacterium clone ncd1074c03c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	811	811	99%	0.0	97%	HM336334.1
Uncultured bacterium clone ncd299f09c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	811	811	99%	0.0	97%	HM272674.1
Ribersteinia trehalosi USDA-ARS-USMARC-189 complete genome	808	4848	99%	0.0	97%	CP006955.1
Ribersteinia trehalosi USDA-ARS-USMARC-188 complete genome	808	4848	99%	0.0	97%	CP006954.1
Ribersteinia trehalosi USDA-ARS-USMARC-192 complete genome	808	4848	99%	0.0	97%	CP003745.1
Pasteurella trehalosi strain C1008-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	808	808	99%	0.0	97%	
Uncultured bacterium strain Ph43106 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	806	806	99%	0.0	96%	

Questions/comments

Nucleotide BLAST: Search: X NCBIBlast:Nucleotide Sequence (491 letters)

Secure | https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uncultured bacterium clone ncd1730g03c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	806	806	99%	0.0	96%	KJ632968.1
Uncultured bacterium clone ncd1323b07c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	806	806	99%	0.0	96%	JF151212.1
Pasteurellaceae bacterium D2941_98 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	802	802	99%	0.0	96%	JQ356603.1
Pasteurellaceae bacterium CCUG 22043 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	800	800	99%	0.0	96%	JQ356614.1
Pasteurellaceae bacterium KM555_08 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	800	800	99%	0.0	96%	JQ356613.1
Pasteurellaceae bacterium M2500/99/3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	800	800	99%	0.0	96%	JQ356600.1
Ribersteinia sp. XJMN5-134-NF2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	800	800	99%	0.0	96%	KF828871.1
Uncultured bacterium clone DD5-17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	800	800	99%	0.0	96%	EU681975.1
Uncultured bacterium clone I2-02 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	800	800	99%	0.0	96%	DQ113707.1
Pasteurellaceae bacterium D227_99 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	798	798	99%	0.0	96%	JQ356604.1
Ribersteinia sp. Afs-10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	795	795	99%	0.0	96%	KU999380.1
Pasteurellaceae bacterium F12_denscaninum 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	795	795	99%	0.0	96%	JQ356621.1
Pasteurellaceae bacterium KM1266_04 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	795	795	99%	0.0	96%	JQ356610.1
Pasteurellaceae bacterium KM1549_04 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	795	795	99%	0.0	96%	JQ356611.1
Pasteurellaceae bacterium D597-2_99 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	795	795	99%	0.0	96%	JQ356608.1
Pasteurellaceae bacterium D452-3_99 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	795	795	99%	0.0	96%	JQ356606.1
Ribersteinia trehalosi 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	795	795	99%	0.0	96%	JF957195.1
Pasteurellaceae bacterium canine oral taxon 080 clone OC053 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	795	795	99%	0.0	96%	JN713243.1

Alignments